

Relatório Final de Estágio

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**HERPESVÍRUS CANINO: A IMPORTÂNCIA DA MEDICINA  
PREVENTIVA EM CANIS DE REPRODUÇÃO**

Filipa Lopes Santiago

Orientador:

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria da Graça Cunha Antunes Lopes**

Co-Orientador:

**Dr. Marcelo Santos**

**Dr<sup>a</sup>. Marga Navarro Villoslada**

Porto 2019



## Relatório Final de Estágio

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

# **HERPESVÍRUS CANINO: A IMPORTÂNCIA DA MEDICINA PREVENTIVA EM CANIS DE REPRODUÇÃO**

Filipa Lopes Santiago

Orientador:

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria da Graça Cunha Antunes Lopes**

Co-Orientador:

**Dr. Marcelo Santos**

**Dr<sup>a</sup>. Marga Navarro Villoslada**



## RESUMO

As perdas neonatais são um problema significativo para os canicultores, trazendo não só prejuízos económicos, mas também efeitos emocionais devastadores. Uma das causas de morte neonatal comumente citada é o herpesvírus canino (HVC-1).

Este vírus pode causar patologias respiratórias e oculares em animais adultos, sobretudo em animais imunodeprimidos, mas o impacto mais significativo está na sua capacidade de causar diversas patologias ligadas ao sistema reprodutor e infeção neonatal sistémica fatal. Em ninhadas infetadas, a taxa de mortalidade pode rondar os 100%.

Este trabalho divide-se em duas partes: a primeira parte trata-se de uma revisão bibliográfica sobre o tema, abordando as características do vírus, o modo de transmissão e latência, sero-prevalência mundial, patogenia e sinais clínicos, métodos de diagnóstico, tratamento e métodos de prevenção; na segunda parte são apresentados os resultados de um inquérito, desenvolvido durante este estágio, dirigido a canicultores portugueses com o objetivo de avaliar o conhecimento sobre o herpesvírus canino, bem como os fatores de risco e as medidas mais comumente utilizadas para evitar os seu efeitos.

Os animais que habitam em canis de reprodução têm um risco acrescido relativamente ao contágio do HVC-1, não só pela densidade animal elevada, mas também pelos hábitos comportamentais, entrada e saída de animais, cruzamentos, participações em exposições, etc, sendo então uma parte importante quando nos referimos ao controlo e eventual erradicação desta patologia. É de grande importância uma avaliação sobre o modo como os criadores lidam com este vírus para sabermos, assim, como abordar e corrigir eventuais conceitos incorretos. Devido à capacidade de latência do HVC-1, a sero-prevalência na população canina é bastante elevada em todo o mundo e neste momento a sua erradicação muito improvável, e, por isso a aplicação de uma medicina preventiva é a chave para impedir a replicação do vírus e consequente manifestação clínica.

Este trabalho foi realizado no âmbito do estágio curricular final, sendo este integrante do mestrado integrado em Medicina Veterinária, na área de clínica e cirurgia de animais de companhia. Em anexo é possível encontrar a casuística e os procedimentos realizados durante este período.



## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus pais por terem acreditado sempre em mim e por, mesmo fisicamente longe, terem estado ao meu lado em todas as alturas. Por me apoiarem em todas as decisões e me ajudarem a seguir o meu futuro. Sem eles, nada disto teria sido possível.

Quero também agradecer ao meu irmão e aos meus avós por todos os elogios que sempre me fizeram ao longo deste percurso e por o apoio a todas as horas.

À Magda por ser o meu porto-seguro e por me aturar em todos os momentos. Por nunca me ter deixado desistir, mesmo quando tudo parecia impossível. Sem ela, nada teria sido igual.

Quero agradecer a Coimbra por ter sido o início de tudo e por me ter proporcionado alguns dos melhores momentos da minha vida. De onde tenho as melhores memórias e experiências e onde conheci pessoas incríveis que vão ficar para sempre na minha vida. Ao ICBAS por me ter feito evoluir, por fazer de mim uma pessoa mais forte.

A todos os docentes que tive o prazer de conhecer e que me transmitiram a sua sabedoria, em especial à minha orientadora, Prof. Dra. Graça Lopes por me ter lembrado do quão fascinante é a área de reprodução e por me ter dado todo o apoio possível e impossível durante a realização desta tese.

A toda a equipa do Planeta Animal e do Hospital Veterinária por toda a paciência e ensinamentos que me transmitiram durante todo o período de estágio, em especial aos meus co-orientadores Dr Marcelo Santos e Dra Marga Navarro por toda a disponibilidade e ajuda.

A todos os canicultores que disponibilizaram um pouco do seu tempo para participar neste trabalho um muito obrigada.

Por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer aos meus cães por serem a minha inspiração e por me receberem todos os dias com uma alegria contagiante e um amor incondicional. Foram esses momentos que me deram força para continuar a lutar pelo meu objetivo: tornar-me médica veterinária.





## **ABREVIATURAS**

% - Percentagem

°C – Graus Celcius

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ALT - alanina aminotransferase

ELISA - *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*

HVC-1 – Herpesvírus Canino 1

HVF-1 – Herpesvírus Felino 1

ICBAS – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

ml – mililitro

Nº- Número

nm – nanómetros

PCR – Reação em cadeia da polimerase

pH – potencial de hidrogénio

TIC – Traqueobronquite infecciosa canina

WSAVA – World Small Animal Veterinary Association



## ÍNDICE

Resumo.....	v
Agradecimentos.....	vii
Lista de abreviaturas.....	ix
Índice.....	xi
Parte 1 – revisão bibliográfica.....	1
1. Introdução.....	1
2. Classificação e propriedades do herpesvírus canino.....	1
3. Transmissão e latência.....	2
4. Sero-prevalência.....	3
5. Patogenia e sinais clínicos.....	4
5.1. Infecção durante a gestação.....	5
5.2. Infecção durante o período neonatal.....	5
5.3. Infecção em animais adultos ou cachorros com mais 3 semanas.....	7
5.3.1. Infecção respiratória.....	7
5.3.2. Infecção genital.....	8
5.3.3. Infecção ocular.....	8
6. Diagnóstico.....	9
6.1. Exames realizados <i>ante-mortem</i> .....	9
6.2. Exames realizados <i>post-mortem</i> .....	10
6.3. Diagnósticos diferenciais.....	11
7. Tratamento.....	11
8. Prevenção.....	12
Parte 2 – Nível de informação, fatores de risco e medidas preventivas por canicultores..	15
9. Metodologia.....	15
10. Resultados.....	16
10.1. Caracterização do canil.....	16
10.2. Tipos de cruzamento realizados.....	17
10.3. Ninhadas e método de nascimento.....	18
10.4. Problemas reprodutivos.....	19
10.5. Herpesvírus.....	20
11. Discussão.....	24
12. Conclusão.....	28
13. Bibliografia.....	28

Anexos.....	31
1. Casuística durante o período de estágio (08/01 – 30/04) .....	31
2. Gráficos dos resultados.....	32
3. Inquérito realizado.....	34

## PARTE 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1. Introdução

O herpesvírus canino (HVC-1) foi descrito pela primeira vez nos Estados Unidos, em 1965 por Carmichael et al. (1965). Pertence à família *Herpesviridae* e, como tal, tem uma patogenicidade e biologia semelhante aos vírus desta família, sendo a sua capacidade de latência nas células e reativações recorrentes muito características. Hoje sabe-se que o HVC 1 está distribuído mundialmente pela população canina doméstica e selvagem, podendo manifestar-se de forma diversa em animais adultos, imunodeprimidos, fêmeas gestantes e/ou cachorros <sup>1</sup>.

Os cães adultos, depois de entrarem em contacto pela primeira vez com o vírus, geralmente permanecem assintomáticos ou manifestam apenas sinais ligeiros de infeção ocular, respiratória ou genital. O vírus permanece em estado latente nos tecidos ganglionares e linfoides podendo ser reativado em situações de imunossupressão como stress, administração de fármacos imunossupressores ou gestação. Após reativação, o vírus inicia a sua replicação e consequente disseminação pelas secreções oronasais e genitais <sup>2</sup>.

Em fêmeas gestantes, a infeção por este vírus na primeira fase de gestação, pode resultar em mortes embrionárias e/ou reabsorções, tornando a infertilidade uma das principais queixas por parte dos tutores <sup>3</sup>. Já quando a infeção ocorre mais tardiamente, pode levar a mumificações, nascimentos prematuros, nados mortos ou cachorros fracos <sup>4</sup>. Os cachorros até às 3 semanas de idade são o grupo mais suscetível ao vírus. Nestes, o HVC-1 pode provocar uma infeção neonatal generalizada que é geralmente fatal<sup>1</sup>.

A prevalência deste vírus na espécie canina é tão alta que se acredita que a maior parte dos cães já teve contacto com o HVC-1. Devido à via de transmissão oronasal, a sua propagação em eventos caninos é muito frequente, sendo que quanto maior a densidade canina, maior é o risco de contacto com o vírus <sup>5</sup>. Contudo, apesar da sero-prevalência ser muito alta em todo o mundo, as manifestações clínicas não ocorrem com tanta frequência como seria de esperar <sup>6</sup>.

### 2. Classificação e propriedades do Herpesvírus Canino

Os membros da família *Herpesviridae* são vírus de ADN de grandes dimensões (100 a 200nm de diâmetro) capazes de afetar mamíferos, répteis e aves. Os vírus desta família são caracterizados pela sua capacidade de se manterem em estado latente nas células, reativando-se de forma recorrente. A latência destes vírus ocorre tipicamente nos gânglios e tecido linfóide da mucosa oronasal e genital <sup>7</sup>.

Com base na organização genómica, podemos dividir esta família em três subfamílias - *Alphaherpesviridae*, *Betaherpesviridae* e *Gamaherpesviridae* <sup>7</sup>. A subfamília *Alphaherpesviridae* é a mais relevante em medicina veterinária, já que nela encontramos o género *Varicellovirus*, do

qual fazem parte vírus como o Herpesvírus Equino, Herpesvírus Bovino tipo 1, Herpesvírus Suíno tipo 1, Herpesvírus Felino tipo 1 (HVF-1) e o Herpesvírus canino (HVC-1) <sup>7</sup>.

Apesar dos vírus da subfamília *Alphaherpesviridae* apresentarem uma filogenia muito semelhante, estes são geralmente muito específicos relativamente ao seu hospedeiro, devido à presença de recetores específicos existentes na superfície celular dos hospedeiros <sup>2</sup>. O HVC-1 tem como hospedeiros os animais domésticos e selvagens da família *Canidae* <sup>2</sup> e, embora partilhe cerca de 51% do genoma com o HVF-1 <sup>7</sup>, até hoje não foi reportada nenhuma infeção do HVC-1 em gatos<sup>1</sup>. Não há também nenhum caso conhecido de infeção deste vírus em humanos <sup>1</sup>.

O herpesvírus canino possui ácido nucleico de cadeia dupla de ADN <sup>1</sup> e a sua replicação, composta por síntese do ADN viral e nucleocápsides, ocorre dentro do núcleo da célula hospedeira, com o envelope viral a ser adquirido na membrana nuclear. O vírus é transportado através do retículo endoplasmático e do aparelho de Golgi até à superfície da célula e libertado, embora muitos possam permanecerem intra-celulares <sup>2</sup>.

Relativamente à sua sobrevivência no ambiente, o HVC-1 é pouco estável fora das células e quando exposto à maioria dos desinfetantes, a temperaturas acima de 37°C (37°C durante 22 horas; 56°C durante 5 a 10 minutos,) ou inferiores a -20°C, é desativado. Adicionalmente, apesar de estável em pH entre 6,5 e 7,6, o HVC-1 é também rapidamente destruído em pH abaixo de 5 ou acima de 8 <sup>2</sup>.

### **3. Transmissão e latência**

O HVC-1 tem preferência em replicar-se a temperaturas entre 35-36°C, sendo esta a temperatura encontrada em cachorros durante as primeiras semanas de vida e também nas vias respiratórias e no aparelho genital dos animais adultos <sup>8</sup>.

Devido ao carácter intermitente da infeção e relativa fragilidade do vírus fora das células, as oportunidades de transmissão deste vírus são limitadas. Assim, a sua transmissão apenas é possível através da proximidade de animal com animal, sendo as principais vias de transmissão a via oro-nasal, genital e orogenital <sup>1</sup>.

No caso dos neonatos, a infeção pode ocorrer ainda no útero, na passagem pelo canal vaginal, e no contacto com secreções oronasais ou genitais de outro cão portador que esteja a disseminar o vírus, por exemplo a mãe ou os irmãos <sup>2</sup>.

Nos adultos, este vírus permanece nos tecidos ganglionares e linfoides das mucosas oronasais e genitais, frequentemente em estado latente e, em situações de imunossupressão como stress, densidade populacional elevada, transporte, gestação, terapias imunossupressoras (como prednisolona, quimioterapia ou radioterapia), este pode ser reativado. Após reativação, há uma replicação nas mucosas anteriormente referidas, levando a uma disseminação pelas secreções das mesmas <sup>2</sup>.

Pensa-se que os locais de latência do HVC-1 estão associados com a sua via de transmissão. Ou seja, quando existe latência nos gânglios trigêminos, linfonodos retro-faríngeos, amígdalas e glândulas salivares parótidas, a transmissão é geralmente realizada através das secreções da mucosa oronasal; por outro lado quando existe latência nos gânglios lombo-sacrais, pensa-se que a sua transmissão é essencialmente realizada pelo trato reprodutivo. O vírus é mais frequentemente detetado nos tecidos relacionados com a mucosa oronasal sendo consistente com a sua principal via de transmissão <sup>9</sup>.

A disseminação do vírus após reativação geralmente dura apenas uns dias enquanto que a disseminação durante a infeção primária é mais prolongada e associada a titulações de anticorpos mais altas <sup>10</sup>.

#### **4. Sero-prevalência**

Vários estudos sugerem que o herpesvírus apresenta uma prevalência entre 20 a 100% na população canina mundial, sendo que os títulos de anticorpos são mais elevados em cães que pertencem a canis <sup>10-13</sup>.

Em 2018, foi feito um estudo com 49 cadelas de diferentes canis portugueses da região de Coimbra e Lisboa, que demonstrava que a prevalência deste vírus, baseado em serologia, era cerca de 75,5%, estando em concordância com os dados que têm vindo a ser publicados de estudos desenvolvidos a nível mundial <sup>14</sup>.

Pensa-se que um animal, uma vez infetado com o HVC-1, irá ser portador para o resto da sua vida, sintomático ou assintomático <sup>2,15</sup>. Apesar disso, o HVC-1 é considerado pouco imunogénico, pelo que os anticorpos geralmente estão presentes em maiores concentrações durante 4 a 8 semanas depois do contacto com o vírus <sup>16</sup>, tornando, por vezes, difícil o cálculo da sua prevalência real. Devemos ter então em conta que animais com serologia negativa não é indicador direto de ausência de contacto com o vírus ou que não o contenham em latência nos seus tecidos.

O título de anticorpos de um animal portador poderá ser negativo ou positivo, sendo que, quando positivo, este poderá apresentar níveis altos ou baixos desta titulação. A altura em que o teste é realizado influencia o resultado <sup>15</sup>. A titulação tende a variar durante a vida do animal e, apesar de não haver correlação direta com a fase do ciclo, sabe-se que durante o diestro algumas fêmeas tendem a apresentar um nível de anticorpos mais baixo. Em humanos, está demonstrado que o título de anticorpos do *Herpesvirus simplex* varia com a fase do ciclo reprodutivo, sendo que em estados mais avançados da gravidez este apresenta-se mais baixo <sup>10</sup>.

Segundo Ronsse et al. (2005), foram encontradas evidências da relação entre o herpesvírus e o tamanho do canil, sendo que canis com mais cães estão, de uma forma geral, frequentemente mais afetados. Em canis com mais de 20 animais, foi observado uma titulação

de anticorpos elevados persistentemente mais prolongado, durante vários meses, apoiando também que a transmissão oronasal é mais frequente nestas condições <sup>10</sup>. Outros critérios podem influenciar a prevalência, como as condições de higiene <sup>10</sup>.

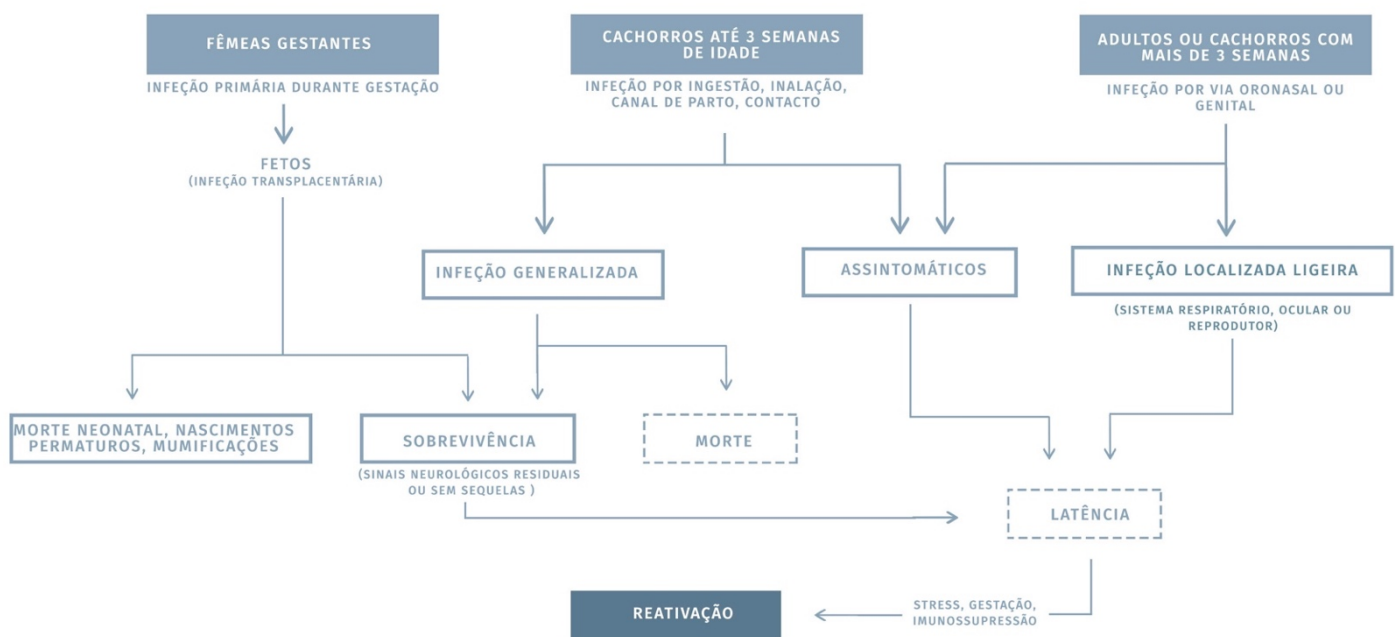
Até ao presente, não existem estudos que indiquem uma maior predisposição deste vírus com determinada a raça mas, quando nos referimos à idade, parece existir uma tendência para, animais mais velhos terem níveis de anticorpos mais elevados. Esta tendência poderá ser explicada pelo maior contacto com outros animais ao longo da vida, seja por contacto oronasal ou por um maior número de cruzamentos <sup>10</sup>.

Para além destes fatores, a existência de vários testes serológicos não standardizados pode ainda resultar numa variação dos resultados significativa e consequentemente afetar as conclusões relativamente às prevalências <sup>17</sup>.

## 5. Patogenia e sinais clínicos

O HVC-1 produz uma infeção associada às células espalhando-se através de fusão celular ou transporte celular <sup>7</sup>. Depois de haver replicação epitelial, a infeção associada aos leucócitos dissemina o vírus para uma grande parte dos tecidos linfoides <sup>7</sup>.

A infeção causada pelo HVC-1 pode manifestar-se de diversas formas dependendo da idade, competência do sistema imunitário e género. Na figura 1 é apresentado um resumo das diferentes formas de infeção e transmissão do HVC-1.



**Figura 1** – Patogénese e manifestação do Herpesvírus Canino 1 (HVC-1). Esquema adaptado de Craig E. Greene (2012) - *Infectious Diseases Of Dog and Cat – 4th Edition*.



### **5.1. Infecção durante a gestação**

A infecção primária durante a gestação ou a reativação do vírus por imunossupressão, pode resultar na transmissão transplacentária do vírus para os fetos. Apesar da infecção do vírus ser mais comum após o nascimento, especialmente através da passagem pelo canal de nascimento ou através as secreções oronasais da mãe ou irmãos de ninhada infetados, a transmissão transplacentária também está descrita. As consequências da transmissão transplacentária do vírus diferem consoante a idade gestacional <sup>2</sup>.

Em caso de infecções ou reativações durante os primeiros 30 – 40 dias de gestação pode ocorrer morte fetal e reabsorção <sup>18</sup>, sendo que muitas vezes a gestação nem chega a ser detetada e os criadores relatam apenas um problema de infertilidade <sup>37</sup>. Infecções mais tardias, entre os 40 – 55 dias de gestação, são passíveis de causar mumificações, nascimentos prematuros, nascimento de nados mortos ou nascimento de cachorros fracos que poderão morrer até 2 semanas após o nascimento <sup>4</sup>.

Pensa-se que uma grande parte das fêmeas seropositivas que já tinham sido previamente expostas ao vírus consigam produzir ninhadas saudáveis, embora as condições de higiene, densidade populacional e estado imunitário possam interferir <sup>7</sup>.

Os cachorros que são infetados por via transplacentária e nascem vivos, são geralmente mais fracos e mais pequenos. Na mesma ninhada, os cachorros infetados podem ou não evidenciar sinais clínicos, pelo que, em ambas as situações, se pensa que mantenham o vírus latente nos tecidos. No entanto, o mais comum após uma infecção transplacentária é os cachorros desenvolverem uma infecção fatal até nove dias após o nascimento <sup>2</sup>.

### **5.2. Infecção durante o período neonatal**

Os neonatos representam um desafio especial para os veterinários e criadores devido à sua grande fragilidade. Estes dependem da mãe, do criador e do ambiente que os rodeia para satisfazer todas as suas necessidades <sup>19</sup>.

Até às 2 semanas de idade não conseguem realizar a termorregulação <sup>20</sup>, por isso necessitam de cuidados extra para manterem a sua temperatura corporal ótima. O sistema imunitário também é imaturo e suscetível a infeções, visto que nascem com cerca de 10% de anticorpos, sendo que os restantes 90% são passados através do colostro durante as primeiras 18 a 24 horas <sup>19</sup>. A imunidade celular mediada é fraca ao nascimento e vai aumentando durante as primeiras semanas ou meses de vida, sendo que só são capazes de gerar uma resposta inflamatória e febril depois das 6 a 12 semanas de idade <sup>19</sup>. A funcionalidade dos rins é também imatura apresentando, por isso, um maior risco de desidratação <sup>21</sup>. Os neonatos também são mais suscetíveis a desenvolver hipoglicémia do que animais adultos, uma vez que têm baixas reservas de glicogénio no fígado <sup>22</sup>.

Deste modo, na monitorização de neonatos é essencial controlar a temperatura corporal, o nível de glicémia e de hidratação bem como providenciar oxigenação adequada <sup>19</sup>.

Visto serem animais muito sensíveis ao nascimento, existem inúmeras etiologias capazes de causar morte neonatal como por exemplo, hipotermia, hipoglicémia, deficiente ingestão de colostro, deformações congénitas, fraca viabilidade ao nascimento, trauma e infeções bacterianas ou víricas, como é o caso do HVC-1.

O período de máxima suscetibilidade ao HVC-1 está bem caracterizado, apresentando-se entre as 3 semanas antes e as 3 semanas depois do parto <sup>7</sup>. Como já foi referido, a infeção pós parto pode ocorrer durante a passagem pelo canal de parto, pelo contacto com secreções oronasais / genitais da progenitora ou de outros animais infetados, incluindo cachorros infetados da mesma ninhada <sup>2</sup>.

As apresentações clínicas podem variar de neonato para neonato, mesmo dentro da mesma ninhada e é por isso importante realçar que nem todos os cachorros da mesma ninhada são sempre infetados<sup>1</sup>.

Devido ao período de incubação ser entre 3 a 10 dias, os sinais clínicos geralmente aparecem entre a 1º e a 3º semana de idade <sup>1,7</sup>.

Nas primeiras 24 horas depois da exposição ao vírus, a replicação primária ocorre nas células epiteliais das mucosas, entrando depois na corrente sanguínea através dos macrófagos. A presença do vírus nas células fagocitárias mononucleares dos linfonodos e no baço, resultam numa disseminação de célula para célula levando a uma hiperplasia linfóide com necrose <sup>2</sup>. Este processo necrótico multifocal ocorre em vários órgãos, sendo que os mais afetados são as glândulas adrenais, rins, pulmões, baço e fígado. A presença de hemorragias multifocais associadas a lesões necróticas podem estar associadas a vasculite necrosante dos vasos sanguíneos e trombocitopenia marcada que ocorre durante a infeção <sup>2</sup>.

Posteriormente, o HVC-1 pode ser transportado ao longo dos axónios até ao sistema nervoso central, causando meningocefalite <sup>10</sup> mas, na maior parte das vezes, este transporte não chega a realizar-se devido à morte do neonato.

A infeção sistémica descrita em neonatos, está associada ao facto destes possuírem uma temperatura 1 a 1,5 graus inferior aos adultos, correspondendo à temperatura favorável para a replicação do vírus. Adicionalmente, o sistema imunitário imaturo e consequente incapacidade de resposta inflamatória são também fatores importantes para a suscetibilidade à infeção viral <sup>1</sup>.

Pensa-se que a imunidade adquirida pela mãe possa ser uma importante condição para a sobrevivência dos cachorros infetados. Os neonatos que ingerem colostro de mães seronegativas desenvolvem mais frequentemente uma infeção fatal quando infetados com o vírus, quando comparados com neonatos que ingerem colostro de mães seropositivas, que geralmente se mantêm assintomáticos após contacto com o mesmo. Os anticorpos maternos ou a imunidade dos linfócitos adquiridos através do colostro, explicam o facto de cadelas infetadas

naturalmente durante a primeira gestação apresentarem cachorros doentes numa primeira gestação e, nas gestações seguintes, apresentarem gestações e cachorros saudáveis <sup>2</sup>.

Os sinais clínicos são consistentes com uma doença aguda necrosante <sup>23</sup>, sendo por isso considerados sinais inespecíficos. Estes podem incluir prostração, taquipneia, dispneia, dor abdominal, anorexia (com perda de peso ou nenhum ganho), vômitos, diarreia, ataxia e secreções nasais serosas ou hemorrágicas sendo que os cachorros geralmente começam a recusar o alimento e vocalizam intensamente <sup>23</sup>. As mucosas podem apresentar hemorragias petequiais e a região inguinal e abdominal eritemas papulares ou vesiculares com edema subcutâneo. Estão também descritas, possíveis lesões oculares, como panuveíte, apesar da maior parte das vezes não se chegarem a desenvolver visto que o neonato falece antes devido à infeção sistémica fatal <sup>24</sup>. Antes da morte, que ocorre geralmente entre 2 a 3 dias após o início dos sinais clínicos, os neonatos perdem consciência e podem apresentar também convulsões ou opistótonos <sup>2,7</sup>. Os neonatos que sobrevivem à infeção pelo vírus, podem desenvolver cegueira, ataxia e surdez, ou podem recuperar completamente sem apresentar nenhuma alteração <sup>1</sup>.

A partir das 3 semanas de vida, os cachorros que são infetados são relativamente resistentes e pouco afetados pelo vírus, sendo que podem apenas apresentar infeções localizadas nas vias áreas superiores ou infeções oculares (assunto abordado na secção 5.3).

### **5.3. Infeção em animais adultos ou cachorros com mais de 3 semanas**

O HVC-1 está perfeitamente adaptado ao seu hospedeiro, e por isso, numa fase inicial de infeção, pode provocar sinais clínicos ligeiros, mesmo em animais com sistema imunitário competente. Os sinais clínicos estão geralmente associados ao trato respiratório, genital e ocular uma vez que aqui as temperaturas são mais baixas sendo favorável para a replicação do HVC-1 <sup>8</sup>.

#### **5.3.1. Infeção respiratória**

Em cães adultos e cachorros com mais de 3 semanas de idade, a infeção é normalmente subclínica ou latente. No entanto, uma infeção aguda ou reativação do HVC-1 pode causar sinais respiratórios de rinite e faringite <sup>2</sup>. Espirros ou secreção oculonasal podem ser sinais clínicos encontrados em animais infetados com HVC-1 <sup>1</sup>.

Alguns autores relatam uma associação entre o herpesvírus e a síndrome traqueobronquite infecciosa canina (TIC). Contudo, o papel do HVC-1 nesta síndrome ainda não está completamente esclarecido, e supõe-se que o vírus possa ser um fator exacerbador dos sinais clínicos mas não ser o agente primário responsável <sup>25</sup>.

### **5.3.2. Infecção genital**

O HVC-1 pode ser isolado de lesões papulovesiculares do trato genital canino <sup>2</sup>.

A localização genital em cadelas faz com que seja transmitido, não só sexualmente, mas também para os cachorros durante o parto. Estudos comprovaram que este vírus está presente de uma forma persistente nos linfonodos lombo-sagrados e, quando as condições o permitem, este entra em circulação. De seguida a replicação nas mucosas é iniciada o que dá origem a episódios de excreção pelas mucosas genitais, contaminando assim os neonatos na altura do parto e/ou provocando a transmissão venérea do vírus <sup>2,10</sup>.

As infeções, em fêmeas, são caracterizadas por lesões linfo-foliculares, graus variáveis de hiperémia vaginal e ocasionalmente petéquias ou hemorragias equimóticas na submucosa <sup>2</sup> e pode ainda ocorrer uma vulvovaginite vesicular com hiperplasia dos folículos linfoides. As lesões vesiculares são mais evidentes durante o pro-estro e regredem durante o período de anestro <sup>2</sup>.

Os machos podem apresentar lesões semelhantes na base do pénis e ao longo do prepúcio sendo que também pode estar presente um corrimento prepucial <sup>1,2,7</sup>. Balanopostite vesicular e hiperplasia dos folículos linfoides dos bulbos penianos está também descrita <sup>26</sup>.

### **5.3.3. Infecção ocular**

O HVC-1 foi identificado em zaragatoas conjuntivais e da córnea em animais com conjuntivite, sendo por isso considerado um agente capaz de causar lesões oculares em cães <sup>2</sup>. Adicionalmente, é possível a disseminação do vírus através dos corrimentos oculares <sup>24</sup>.

As infeções oculares são, mais uma vez, influenciadas pela idade e pelo estado imunitário do animal. Lesões subclínicas ou lesões ligeiras auto-limitantes são típicas de cães adultos imunocompetentes, enquanto que lesões oculares mais severas e persistentes são geralmente encontradas em cães imunodeprimidos <sup>24</sup>. Em cães adultos as lesões são tipicamente restritas à córnea, conjuntiva e pálpebra e podem incluir blefarite, conjuntivite, queratite ulcerativa, e queratite não ulcerativa. A conjuntivite é uma das lesões oculares mais frequentemente encontradas em cães adultos com HVC-1, e pode estar associada a lesões da pálpebra ou alterações da córnea. Vários estudos onde pesquisaram a presença de HVC-1 em amostras conjuntivais de cães com e sem conjuntivite, confirmaram que o mesmo estava presente numa grande parte dos cães com conjuntivite e ausente em cães sem conjuntivite, sugerindo que este vírus pode ser um agente etiológico de conjuntivite relativamente comum <sup>24</sup>. A infeção ocular ativa por HVC-1 pode provocar blefarospasmo, fotofobia, prurido ocular, protusão da membrana nictitante, quemose, hiperémia e corrimento ocular <sup>24</sup>.

Estas lesões podem ser uni ou bilaterais, sendo que, infeções oculares primárias apresentam lesões tipicamente bilaterais enquanto que as lesões recorrentes podem manifestar-se de forma uni como bilateral <sup>24</sup>. A administração sistémica de medicação imunossupressora como

glucocorticoides pode ser uma causa de reativação do vírus, no entanto, o tratamento ocular tópico com ciclosporina ou prednisolona não parece provocar reativação do vírus <sup>24,26</sup>.

## **6. Diagnóstico**

Podemos suspeitar de infecção com HVC-1 sempre que existirem sinais clínicos e história clínica compatível mas, como muitas vezes estes sinais são inespecíficos, a confirmação do diagnóstico é importante. Para confirmação do diagnóstico podem ser realizados exames *ante-mortem* (análises laboratoriais, testes serológicos, isolamento viral, reação em cadeia da polimerase (PCR)) e/ou *post-mortem* (necrópsia, isolamento viral e PCR).

### **6.1. Exames realizados *ante-mortem***

As análises laboratoriais (hematológicas e as bioquímicas analíticas) em neonatos geralmente são inespecíficas, sendo por vezes possível visualizar uma trombocitopenia marcada assim como um aumento da atividade da alanina aminotransferase (ALT) <sup>2</sup>.

Cães adultos e cachorros com mais de 3 semanas desenvolvem anticorpos após exposição ao vírus, que podem ser detetados no soro através de métodos de diagnóstico serológicos baseados em testes de neutralização viral. Os dois testes serológicos mais utilizados são o teste de sero-neutralização viral e o teste ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), sendo este último o mais frequentemente utilizado pela alta sensibilidade e especificidade e facilidade de realização <sup>5</sup>. Os títulos de anticorpos detetados em animais previamente expostos podem ser muito variáveis e os limiares de reatividade (cutoffs) podem variar conforme os diferentes testes serológicos. No entanto, segundo Morrese P. (2004), devido ao facto do HVC-1 ser pouco imunogénico, um título superior a 1:2 associado a sinais clínicos pode ser considerado sugestivo de diagnóstico clínico <sup>7</sup>. O título de anticorpos aumenta após a infecção e pode permanecer elevado durante 1 a 2 meses. Após esse tempo, o nível começa a diminuir e, embora com níveis mais baixos, estes anticorpos podem ser detetados durante cerca de 2 anos <sup>17</sup>. Os cães seropositivos sem sinais clínicos são animais que já foram expostos ao vírus em algum momento, e que, apesar de não terem necessariamente uma infecção ativa, pensa-se serem portadores deste vírus <sup>2</sup>. Os animais seronegativos, também não estão necessariamente livres do vírus, uma vez que há possibilidade de resultados falsos negativos devido à capacidade de latência do vírus e à curta duração dos anticorpos circulantes <sup>2</sup>. Assim, a realização de análises seriadas em cada animal, em vez de uma única, confere maior fiabilidade na interpretação dos resultados. Em neonatos com menos de 3 semanas, devido ao curto espaço de tempo entre a exposição ao vírus e a manifestação dos sinais clínicos este método de diagnóstico não é útil <sup>26</sup>.

O isolamento viral não é o método mais sensível para deteção da infecção pelo vírus visto que, após infecção aguda, só seria fiável se realizado durante 2 a 3 semanas após a infecção, pois

não é capaz de detetar quando o vírus está em modo latente. Se não existir uma excreção ativa do vírus, a sua identificação é muito difícil utilizando apenas este método, sendo por isso recomendável fazê-lo idealmente quando há sinais clínicos respiratórios ou reprodutivos ativos. As amostras recolhidas para análise devem ser mantidas em refrigeração, evitando o congelamento <sup>7</sup>. A confirmação do isolamento viral em cultura de células pode ser efetuada através de microscopia eletrónica, imunofluorescência e PCR <sup>2</sup>.

O PCR permitiu afirmar que, infeções latentes deste vírus são prevalentes em cães assintomáticos <sup>2</sup>, devido à sua capacidade de detetar pequenas cópias de genoma viral <sup>9</sup>. No entanto, as avaliações dos resultados deste teste em animais adultos, devem ter em conta que, o período de excreção do vírus em cães já imunizados é muito curto, durando apenas alguns dias <sup>10,27</sup>. Cães que não apresentem sinais clínicos ou que tenham o vírus em latência podem ter excreções virais igualmente curtas dificultando assim a sua deteção <sup>10</sup>. Em animais adultos ou cachorros devem ser usadas zaragatoas para retirar amostras da mucosa nasal, conjuntival, do trato genital ou respiratório, dependendo dos sinais clínicos apresentados. A localização de onde é retirada a amostra é importante porque podem ocorrer falsos negativos se esta for retirada de um tecido onde não esteja presente o vírus ou que tenha muito poucas cópias do genoma viral<sup>9</sup>. Falsos negativos podem também ocorrer devido a reduzida excreção viral durante a fase de latência, imunização ou ausência de lesões. Já os falsos positivos podem ocorrer devido à alta prevalência em cães clinicamente saudáveis que são portadores do vírus <sup>17</sup>. Pensa-se que, o número de células na corrente sanguínea infetadas com o vírus na sua forma latente são escassas, por isso a deteção deste vírus numa amostra de sangue através de PCR geralmente não é fiável. O mesmo acontece com outros vírus da mesma subfamília, *alfaherpesviridae* <sup>9</sup>.

## **6.2. Exames realizados *post-mortem***

As lesões encontradas *post-mortem* geralmente são características, por isso a necrópsia é uma avaliação importante no diagnóstico deste vírus. Hemorragias multifocais e descoloração do parênquima de vários órgãos, como rim, fígado e pulmões são achados comuns em neonatos infetados <sup>2</sup>. Na pleura e cavidades peritoneais, é possível encontrar fluido hemorrágico ou seroso; os pulmões estão geralmente firmes e edematosos com hiperémia pronunciada e áreas focais de hemorragia; esplenomegalia e linfadenomegalia generalizada são achados consistentes, tal como, ao longo do trato gastro-intestinal, é frequente encontrar petéquias <sup>2</sup>.

As placentas de fêmeas gestantes são bons tecidos para fazer o diagnóstico já que geralmente apresentam lesões necróticas multifocais, no entanto, estes tecidos são muitas vezes ingeridos pelas progenitoras sendo por isso poucas vezes avaliado <sup>28</sup>. Ao corte do rim, as hemorragias são em forma de cunha radiando para fora da pélvis renal, sendo a causa uma necrose fibrinóide das artérias inter-lobulares <sup>2</sup>. A examinação microscópica dos tecidos dos

nados mortos suspeitos de infecção intra-uterina revelaram focos de necrose com corpos de inclusão intra-nucleares no fígado, baço, rins e coração <sup>28,29</sup>.

O isolamento viral, através de cultura de células em fetos abortados, placenta e neonatos infectados é possível, sendo feita através de amostras das glândulas adrenais, rins, pulmões, baço, linfonodos ou fígado <sup>28,7</sup>. Assim como no exame *ante-mortem*, o PCR é um dos diagnósticos definitivos mais fiáveis <sup>30</sup> e preferencialmente usado em tecidos de fetos abortados, placenta e neonatos infectados.

### 6.3. Diagnósticos diferenciais

Os diagnósticos diferenciais mais comuns para os sinais clínicos compatíveis com o HVC-1 estão representados na tabela seguinte (tabela 1).

	Sinais Respiratórios ligeiros	Problemas reprodutivos	Mortalidade Neonatal
<b>Causas infecciosas</b>	Adenovírus canino tipo 2 Parainfluenza canino <i>Bordetella Bronquiseptica</i>	<i>Brucella Canis</i> Vírus da Esgana Canina <i>Toxoplasma gondii</i> <i>Neospora caninum</i> Parvovírus canino <i>Mycoplasma Canis</i>	Septicemia bacteriana ( <i>E-coli</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Klebsiella</i> ) Parvovírus canino Adenovírus canino tipo 1
<b>Causas não infecciosas</b>	Corpo estranho	Stress Trauma Tóxicos Défices nutricionais	Malformações congénitas Traumatismo Intoxicação

**Tabela 1:** Diagnósticos diferenciais para sinais respiratórios ligeiros e problemas reprodutivos em adultos e mortalidade neonatal.

## 7. Tratamento

Em animais adultos, quando a infecção é assintomática, não há necessidade de tratamento, e nos que apresentem sintomatologia respiratória, genital ou ocular o tratamento é sintomático.

Nos neonatos o tratamento é, a maior parte das vezes, ineficaz. Isto acontece porque quando os sinais clínicos estão presentes, há uma progressão rápida e geralmente fatal da doença, sendo que quando conseguem sobreviver, a probabilidade de ficarem com deficiências neurológicas é elevada <sup>7</sup>. Há, no entanto, algumas medidas terapêuticas, para além do tratamento sintomático, que podem ser utilizadas na tentativa de parar a replicação do vírus e salvar os cachorros. São estes o soro hiperimune, a elevação da temperatura da maternidade, medicação anti-viral e lactoferrina.

Estão descritos casos em que a administração intraperitoneal de 1-2 ml de soro hiperimune, reduziu a mortalidade em ninhadas infetadas pelo HVC-1. Este soro é rico em anticorpos contra este vírus e pode ser obtido a partir de cadelas que tenham tido recentemente ninhadas infetadas ou cadelas seropositivas para este vírus <sup>1,2</sup>. Devido ao curto período de suscetibilidade, apenas é necessária uma única injeção. Este tratamento parece reduzir as perdas em ninhadas expostas ao vírus, mas o seu sucesso depende da presença de níveis adequados de anticorpos no soro, bem como da sua administração antes do total desenvolvimento sistêmico da doença. Caso os sinais neurológicos já estejam presentes, a reversão torna-se mais improvável <sup>2</sup>.

A temperatura das maternidades é um fator que pode complementar o tratamento da manifestação clínica deste vírus. Em condições experimentais em que a temperatura dos neonatos foi aumentada artificialmente, depois de terem sido expostos ao vírus, a mortalidade da ninhada foi reduzida, e os sinais clínicos e as alterações patológicas foram menos severos <sup>2</sup>. Assim, a manutenção da maternidade a temperaturas mais elevadas (acima dos 30°C) e com humidade entre os 45-55%, permite aos cachorros manter uma temperatura retal de 38°C, o que parece ser suficiente para que a replicação do vírus seja significativamente diminuída <sup>2</sup>. No entanto, na maioria dos casos, em neonatos em que a infeção sistémica já esteja instalada, o aumento de temperatura parece ser insuficiente para a recuperação <sup>2</sup>.

Outra alternativa é a administração de aciclovir, um medicamento anti-viral, nucleosídeo análogo da purina, sintético, com atividade inibitória *in vitro* e *in vivo* contra os herpesvírus *simplex* em humanos e alguns outros vírus <sup>1</sup>. Em neonatos em que a infeção sistémica ainda não esteja totalmente instalada, existem relatos de tratamentos bem sucedidos com este fármaco <sup>2</sup>. A dose recomendada pelos autores dos estudos para cachorros é de 7-10mg per os a cada 6 horas até às 3 semanas e meia de vida. Contudo, a dose terapêutica em Medicina Veterinária ainda não está estabelecida e requiere mais investigação <sup>2</sup>. A possibilidade de administração deste fármaco deve ser discutida com o tutor ou criador antes do tratamento ser iniciado pois existe a possibilidade de causar efeitos tóxicos, como danos no sistema nervoso central ou no miocárdio, e ainda aumentar a toxicidade de medicamentos nefrotóxicos <sup>13,17</sup>.

Por fim, a lactoferrina, pode ser administrada oralmente para proteger cachorros clinicamente saudáveis que tenham sido expostos ao vírus ou que haja suspeita da sua exposição <sup>2</sup>. A lactoferrina é uma proteína globular multifuncional isolada inicialmente de leite bovino que parece ter um efeito imunomodelador na cavidade oral, uma vez que esta tem capacidade para aumentar a atividade fagocítica das células <sup>2</sup>.

## 8. Prevenção

A sero-prevalência mundialmente elevada do HVC-1 faz com que a erradicação deste na população canina seja, por enquanto, impossível <sup>2</sup>.



Realizar exames a todos os cães do canil para saber o seu estatuto serológico não parece ser de grande relevância, visto que maior parte dos cães já foram expostos ao vírus em algum momento da sua vida. Realizar exames na altura do cruzamento ou durante a gestação também não parece ter relevância, porque o estatuto serológico pode mudar a qualquer altura, ou seja, os negativos podem passar a ser positivos e mesmo o estatuto seropositivo não indica necessariamente que o cão esteja a excretar o vírus ou que o vá alguma vez manifestar clinicamente <sup>2</sup>.

A cesariana também não é uma opção viável como medida de prevenção uma vez que apenas evitaria a transmissão pelo canal do parto, sendo que todas as outras formas de transmissão continuariam a ser uma possibilidade. A inseminação artificial pode ser usada para proteger o macho ou quando um macho suspeito de ser portador tem intenção de cruzar com uma fêmea primípara, no entanto, o benefício desta prática não foi totalmente estudado <sup>2</sup>, uma vez que a transmissão através do sémen também pode ser uma possibilidade <sup>39,2</sup>.

Face ao exposto, a prática de medidas de prevenção são essenciais para acautelar o aparecimento de sinais clínicos nos cães, especialmente em neonatos e cadelas reprodutoras.

Um conjunto de boas práticas de higiene facilita a inativação deste vírus. Este é eliminado por desinfetantes comuns, por isso a limpeza regular do canil é importante para manter os níveis virais reduzidos. A higiene do canil é essencial para prevenir, não só este vírus, como todas as doenças infecciosas <sup>1</sup>.

Manter o plano de vacinação em dia (segundo as recomendações WSAVA) de todos os animais do canil é também importante para prevenir os surtos de doenças infecciosas <sup>31</sup>. Nesse sentido, este também é um fator a ter em conta na prevenção do HVC-1 pois, qualquer infeção pode despoletar a reativação do vírus que se encontrava em estado latente.

A maior parte dos cães adultos já foram expostos ao HVC-1 por isso privar todos os cães do canil de contacto com outros cães ou isolá-los completamente do mundo exterior não parece ser a maneira mais adequada de lidar com este vírus. Está documentado que, cadelas seropositivas para HVC-1, geralmente são capazes de produzir anticorpos adequados e transmiti-los aos seus descendentes, por isso a exposição viral de fêmeas antes da primeira gestação é uma importante medida. Pensa-se que expor cadelas jovens a cães mais velhos (que muito provavelmente já foram expostos ao vírus) antes da primeira gestação, pode dar oportunidade a que desenvolvam anticorpos protetores de HVC-1 e consequentemente transmiti-los aos seus descendentes <sup>17</sup>. Esta primeira exposição deve ser feita sempre antes da primeira gestação e nunca durante o cruzamento, gestação ou amamentação <sup>2</sup>. Sabe-se também que cadelas que já tenham tido uma gestação afetada por este vírus, têm menos risco de voltarem a ter ninhadas afetadas clinicamente <sup>2</sup>.

Evitar a exposição a stress durante a altura do cruzamento e gestação parece ter bastante relevância, no sentido em que o stress pode despoletar uma reativação do HVC-1 que

anteriormente se encontrava latente <sup>2</sup>. As fêmeas reprodutoras devem estar na sua condição máxima e livres de stress na altura do cruzamento e gestação. Devem ser evitadas gestações em todos os ciclos e uma boa nutrição é também recomendada. Em alturas de cruzamento e gestação, os cães reprodutores não devem ser sujeitos a exposições, viagens longas, mudança de ambiente, e outras atividades que possam provocar stress <sup>2</sup>.

Isolar as cadelas gestantes e os neonatos de outros cães é uma medida prática importante pois o HVC-1 é mais perigoso para os cachorros quando são infetados durante a gestação ou logo após o parto. Assim, durante a gestação (especialmente durante as últimas 3 semanas) e até pelo menos 3 semanas depois do parto, as cadelas (especialmente as que não foram previamente expostas ao vírus) e os neonatos, devem ser isolados de outros cães para evitar que haja exposição durante este período <sup>1</sup>. É provável que, cadelas que foram previamente expostas ao vírus, sejam capazes de imunizar os neonatos através do colostro <sup>2</sup>, contudo, esta medida é falível, por isso o isolamento da mãe e neonatos é uma medida de prevenção prática e importante, não só para este vírus, como para outras doenças infecciosas<sup>1</sup>.

Outra medida de prevenção importante é assegurar que todos os cachorros da ninhada ingerem o colostro, uma vez que 90% dos anticorpos são passados através deste. Às 24 horas de vida, as células intestinais dos neonatos são substituídas por células mais maduras, o que impede a absorção das imunoglobulinas colostrais <sup>32</sup>, assim para além de assegurar a ingestão do colostro, é importante ter em conta que esta ingestão deve ocorrer nas primeiras horas pois o pico de absorção destas imunoglobulinas ocorre nas primeiras 12 horas de vida <sup>32</sup>.

A imunização ativa em fêmeas adultas, adquirida por exposição viral ou por vacinação, fornece anticorpos contra o HVC-1. Estes anticorpos ao serem transmitidos pelo colostro aos neonatos vão conferir-lhes uma imunização passiva, que poderá reduzir a mortalidade dos cachorros expostos ou afetados por este vírus <sup>2</sup>.

A vacina inativada contra o HVC-1 está atualmente licenciada na Europa (Eurican Herpes 205, Merial, France). Esta pode ser administrada subcutaneamente a cadelas reprodutoras antes do parto para assegurar um nível de anticorpos mínimo na altura do parto. A primeira dose da vacinação deve ser feita no estro ou 7 a 10 dias depois do cruzamento e a segunda dose deve ser feita cerca de 6 a 7 semanas depois da primeira, ou seja, 1 ou 2 semanas antes do parto. Como esta vacina não parece provocar uma proteção a longo prazo deve ser repetida em cada gestação. A baixa prevalência de manifestação clínica e a pouca severidade dos sinais clínicos em adultos faz com que o uso da vacina seja justificável primeiramente em canis problemáticos <sup>2</sup>.

O soro hiperimune, referido no tratamento, também pode ser usado como método preventivo em especial em ninhadas em que não tenham acesso a colostro com anticorpos contra HVC-1

<sup>1</sup>.

Por fim mas não menos importante, a temperatura da maternidade é também uma medida importante de prevenção. Mantendo a temperatura ambiente acima dos 28-30°C os cachorros conseguem manter uma temperatura corporal mais elevada tomando a replicação deste vírus e consequente desenvolvimento clínico muito mais difícil <sup>2</sup>. Devem-se utilizar dispositivos de aquecimento, como por exemplo lâmpadas de calor, tendo sempre em atenção a hidratação do neonato, e a progenitora deve ter possibilidade de sair da zona de calor sempre que necessite para evitar desconforto ou stress.

## **PARTE 2 – NÍVEL DE INFORMAÇÃO, FATORES DE RISCO E MEDIDAS PREVENTIVAS ADOTADAS POR CANICULTORES EM PORTUGAL**

### **9. Metodologia**

Foi realizado um inquérito online (inquérito em anexo) através do software *Drive*, da Google, que foi divulgado através das redes sociais. A população alvo do inquérito foram canicultores que exercessem atividade em Portugal. Foi pedido que respondessem às questões com base nos últimos 2 anos e com os dados totais do canil. O preenchimento do inquérito foi feito de forma voluntária e anónima.

O inquérito foi dividido em 5 secções conforme a informação que se pretendia obter. A primeira secção do inquérito, permitiu fazer a caracterização dos canis quanto à localização geográfica, dimensão e também quanto a algumas práticas de movimento de animais, de e para o canil. Assim, pretendeu-se saber qual a localização geográfica do canil (Açores, Madeira e 3 regiões de Portugal Continental (Norte, Centro e Sul)) e a sua dimensão relativa (número de animais reprodutores), número de ninhadas por ano e número de raças criadas no canil. Recolheu-se também informação sobre o tipo de práticas relativas ao movimento de animais, como deslocações para fora do canil, ou seja, participação em exposições caninas ou deslocações de cães para outros canis, bem como de movimentos de animais de fora para dentro do canil, como serviço de hotel canino ou entrada de cães para reprodução.

A segunda parte caracterizou os canis relativamente ao tipo de reprodução usada (monta natural ou inseminação artificial), e quanto à eventual utilização de algum tipo de medicação antes, durante ou após o cruzamento. Já na terceira secção foi feita caracterização quanto ao método de nascimento das ninhadas (parto natural ou cesariana). Na quarta secção, as questões elaboradas tiveram como objetivo conhecer os problemas reprodutivos relacionados com o HVC-1 que os criadores mais frequentemente encontravam no seu canil.

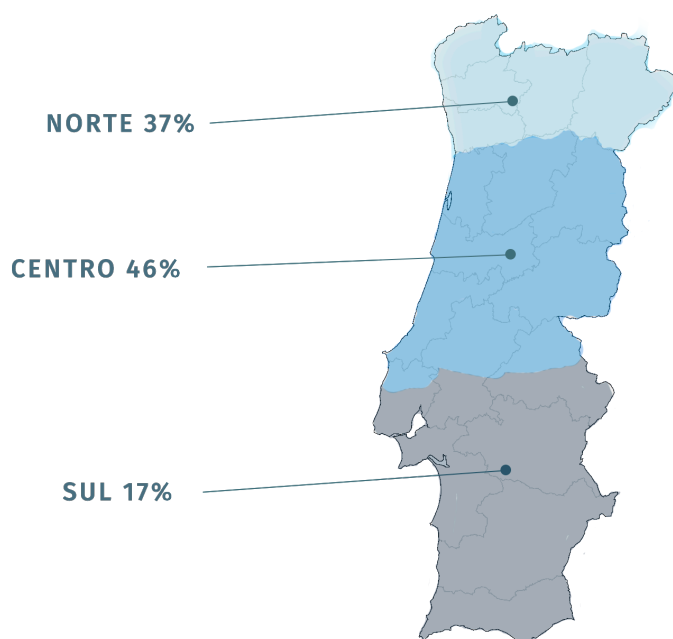
Por fim, na última secção do inquérito foram realizadas questões sobre vários aspetos do herpesvírus canino, de modo a conhecer o nível de informação e as medidas de prevenção mais comumente utilizadas pelos criadores nos canis.

## 10. Resultados

Foram obtidas 101 respostas ao inquérito, das quais 100 foram consideradas válidas.

### 10.1. Caracterização do canil

Na figura 2 está representada a percentagem da localização dos canis dos inquiridos. Apenas foram obtidas respostas ao inquérito em Portugal Continental e aqui, a maioria das respostas obtidas foi de canis situados no Centro do país (46%; n=46) seguido do Norte (37%; n=37) e, por fim do Sul (17%; n=17).



**Figura 2** – Distribuição da localização dos canis dos criadores inquiridos.

Relativamente às raças criadas, foram indicadas um total de 51 raças diferentes. A grande maioria (83%; n=83) dos criadores que responderam apenas fazem criação de uma raça, enquanto os restantes 17% (n=17) criam duas ou mais raças.

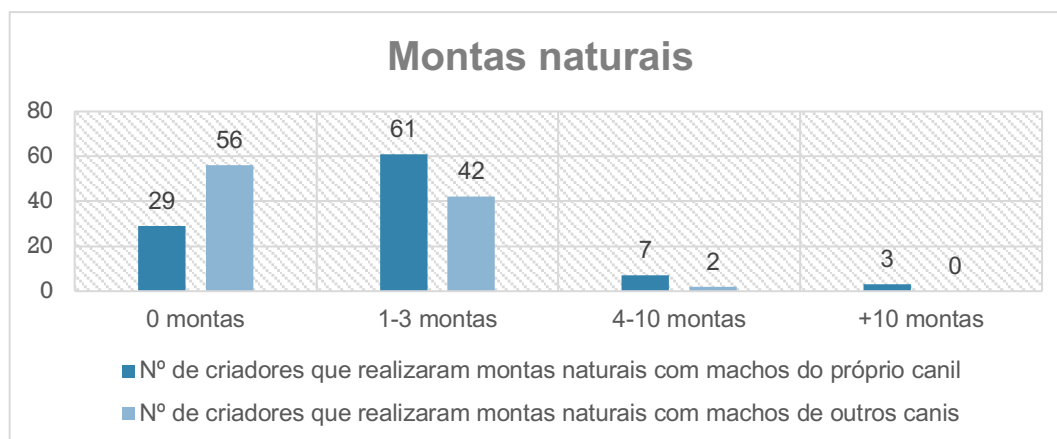
Quanto às dimensões do canil, a grande maioria 86% (n=86) dos inquiridos possui entre 1 a 10 animais reprodutores, enquanto que apenas 14% (n=14) possui mais de 10 animais. Curiosamente, quanto ao número de animais no canil, as três áreas geográficas apresentaram uma distribuição muito semelhante a esta, sendo que no Norte, Centro e Sul a grande maioria dos inquiridos (89% no Norte, 84% no Centro e 82% no Sul) tem entre 1 a 10 animais, sendo que a os restantes possuem mais de 10 animais (Gráfico 13). A maior parte dos animais nos canis são fêmeas reprodutoras, como tal, 11% (n=11) dos criadores inquiridos não possuem machos reprodutores, sendo que o efetivo apenas é constituído por fêmeas. Relativamente às fêmeas reprodutoras, 98% (n=98) dos inquiridos possui entre 1 a 10, sendo os restantes 2% (n=2) divididos igualmente entre os grupos de 11 a 20 e 21 a 40 fêmeas.

O número médio de ninhadas por ano em 90% (n=90) dos criadores inquiridos é de apenas 1 a 3, enquanto que os restantes 10% (n=10) têm entre 4 a 8.

A grande maioria (81%, n=81) dos criadores desta amostragem, participa com os seus animais em exposições caninas. Relativamente ao serviço de hotel/treino canino no canil, 18% (n=18) tem este serviço disponível. Os canis que não frequentam exposições caninas e também não fazem serviço de hotel canino representam 16% (n=16) desta amostragem. Enquanto que os canis que participam em exposições e também fazem serviço de hotel canino, representam 15% (n=15) dos inquiridos.

## 10.2. Tipos de cruzamentos realizados

Nos últimos dois anos, 63% (n=63) dos criadores realizou uma ou mais inseminações artificiais. Quanto aos cruzamentos por monta natural, a pergunta foi dividida em duas possibilidades, monta natural com machos do próprio canil ou monta natural com machos vindos de outros canis. Estes dados estão apresentados no gráfico 1. No geral, foram realizadas mais montas naturais com machos do próprio canil do que com machos de outros canis, sendo que 56% (n=56) dos inquiridos não realizou nenhuma monta natural com machos de outros canis nos últimos dois anos.

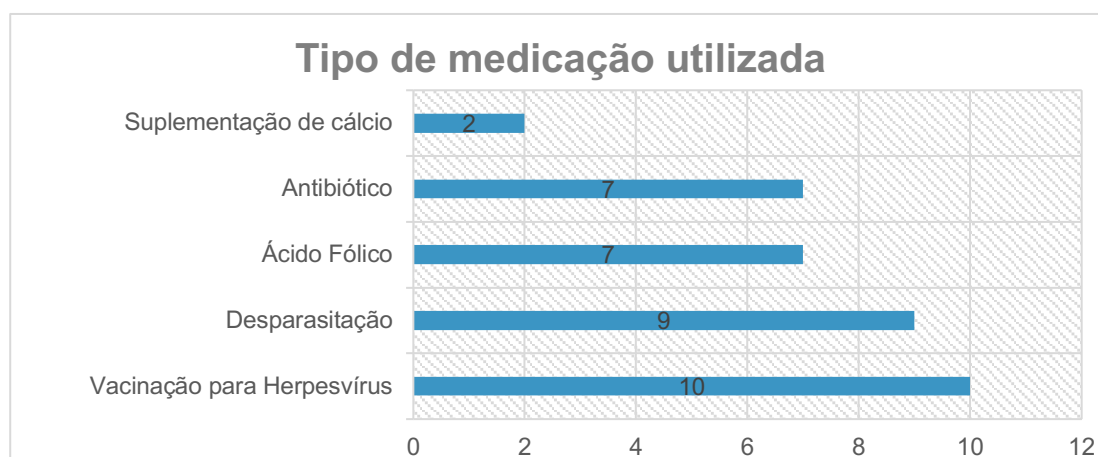


**Gráfico 1** – Número de criadores que realizaram montas naturais com machos do próprio canil ou machos de outros canis nos últimos dois anos.

Na pergunta “Teve cães a deslocarem-se a outros canis para fazerem cruzamentos?”, 53% (n=53) respondeu que não, enquanto que os restantes 45% (n=45) tiveram de 1 a 3 cães e apenas 2% (n=2) de 4 a 10. Já na questão “Houve entrada de cães de outros canis para cruzamentos?”, 47% (n=47) respondeu que não, enquanto que os restantes responderam que sim. Destes, 49% (n=49) respondeu de 1 a 3, 3% (n=3) de 4 a 10 e 1% (n=1) mais de 10.

Relativamente à pergunta “Faz algum tipo de medicação antes, durante ou após a monta/inseminação artificial?”, 29% (n=29) dos inquiridos respondeu que sim. Quanto ao tipo de

medicação utilizada, as respostas foram recolhidas através de método de resposta aberta e vários foram os criadores que responderam mais do que uma medicação. Estas estão representadas no gráfico 2. Dos 29 criadores que fazem medicação (N=29), 34% (n=10) faz vacinação para herpesvírus, 31% (n=9) faz desparasitação e a percentagem que faz antibiótico e ácido fólico foi igual, 24% (n=7). Embora com menos frequência, foi ainda mencionada a suplementação de cálcio, com 7% (n=2).



**Gráfico 2** – Número de criadores que realizam medicação antes, durante ou após a monta/inseminação artificial aos seus animais e tipo de medicação utilizada.

Em relação à questão “Alguma vez lhe foi exigido algum tipo de medicação obrigatória antes, durante ou após a monta/inseminação artificial?”, 96% (n=96) dos inquiridos respondeu que não, enquanto que apenas 4% (n=4) respondeu que sim. Quando abordados em relação ao tipo de medicação exigida, as respostas foram recolhidas através de resposta aberta e consistiram em vacinação contra herpesvírus, ácido fólico e mais uma vez, antibiótico.

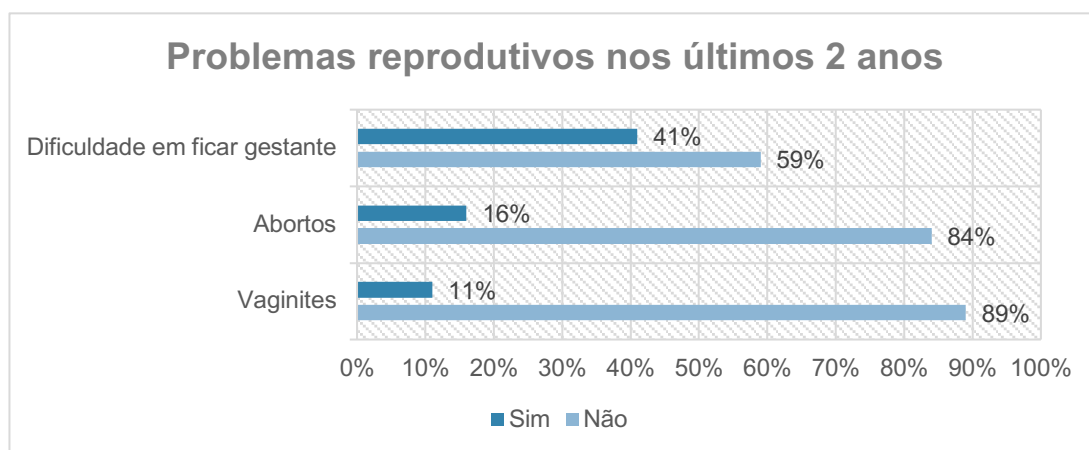
### 10.3. Ninhadas e método de nascimento

A maioria dos criadores (62%, n=62) teve entre 1 a 3 ninhadas nos últimos 2 anos, 33% (n=33) tiveram entre 4 a 10, 4% (n=4) tiveram mais de 10 e apenas 1% (n=1) não teve nenhuma ninhada. Dos criadores inquiridos, 18% (n=18) não teve nenhum parto natural, enquanto que 58% (n=58) teve 1-3, 21% (n=21) teve 4-10, e 3% (n=3) mais de 10.

Quanto às cesarianas foram diferenciadas entre as eletivas ou de urgência. A percentagem dos criadores que não teve nenhuma cesariana de urgência nos últimos 2 anos foi de 47% (n=47) sendo que esta foi igual á dos criadores que tiveram entre 1 a 3. Em relação a cesarianas eletivas observamos que 71% (n=71) dos criadores não marcou nenhuma cesariana, enquanto que 23% (n=23) marcaram 1 a 3 e 6% (n=6) marcaram 4-10.

#### 10.4. Problemas reprodutivos

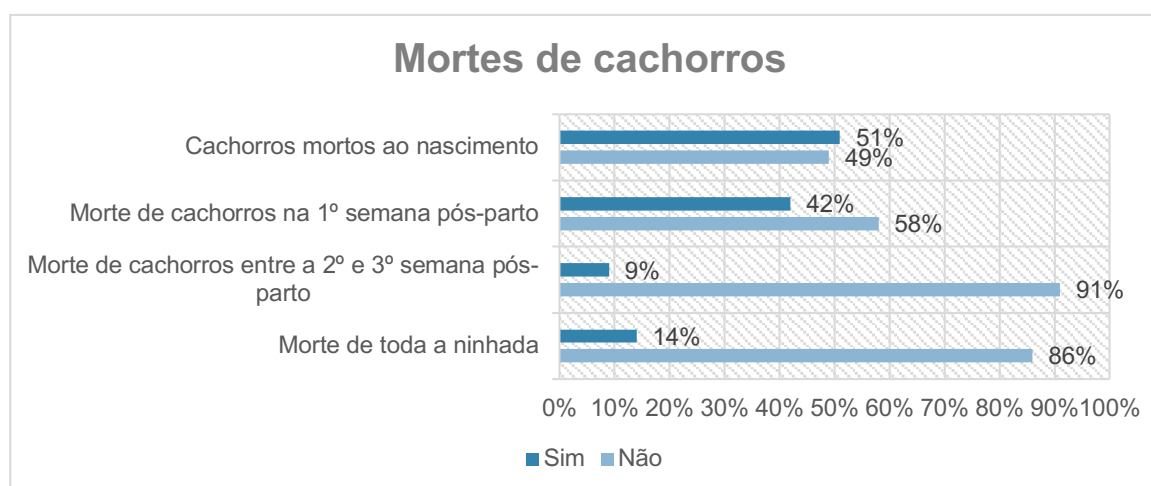
As percentagens mais baixas dos problemas reprodutivos apresentados foram as vaginites (11%, n=11) e os abortos (16%, n=16). O problema reprodutivo mais comumente referido foi a dificuldade em ficar gestante, sendo que 41% (n=41) dos criadores inquiridos relatou já ter tido este problema durante os últimos 2 anos.



**Gráfico 3** – Percentagem dos criadores inquiridos que apresentaram problemas reprodutivos nos seus canis como vaginites, abortos e dificuldades em ficar gestante nos últimos dois anos.

Quando abordados sobre a morte de neonatos, as fases indicadas pelos criadores com tendo maior percentagem de mortes foram em primeiro lugar logo ao nascimento (51%, n=51) seguida pela 1ª semana pós-parto (42%, n=42). A morte de cachorros entre a 2ª e a 3ª semana pós-parto teve uma percentagem muito inferior às anteriores, apenas 9% (n=9) dos criadores relataram ter algum episódio destes durante os últimos 2 anos.

Também baixa (14%; n=14) foi a percentagem de criadores que indicou ter tido mortes de ninhadas completas nos últimos 2 anos.

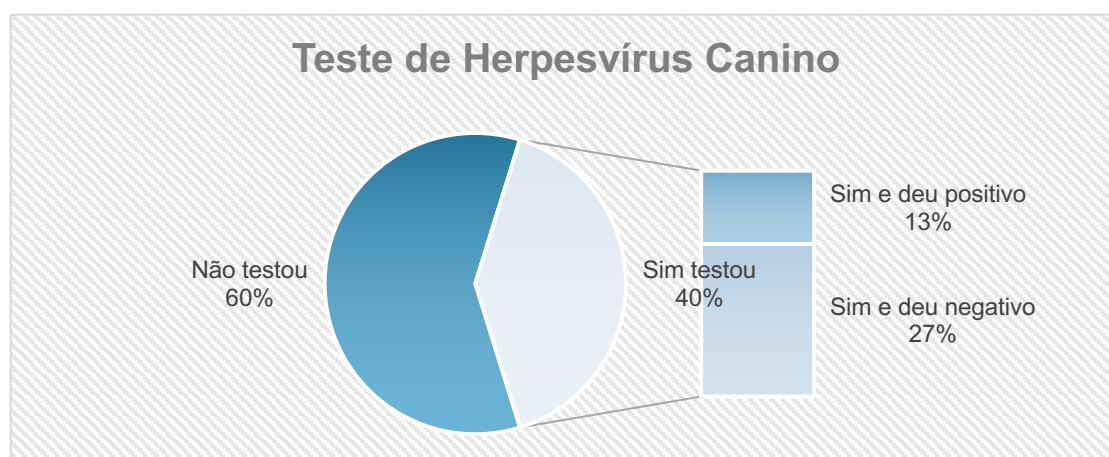


**Gráfico 4** – Percentagem de mortes de neonatos ocorridas nos últimos dois anos relatadas pelos criadores inquiridos.

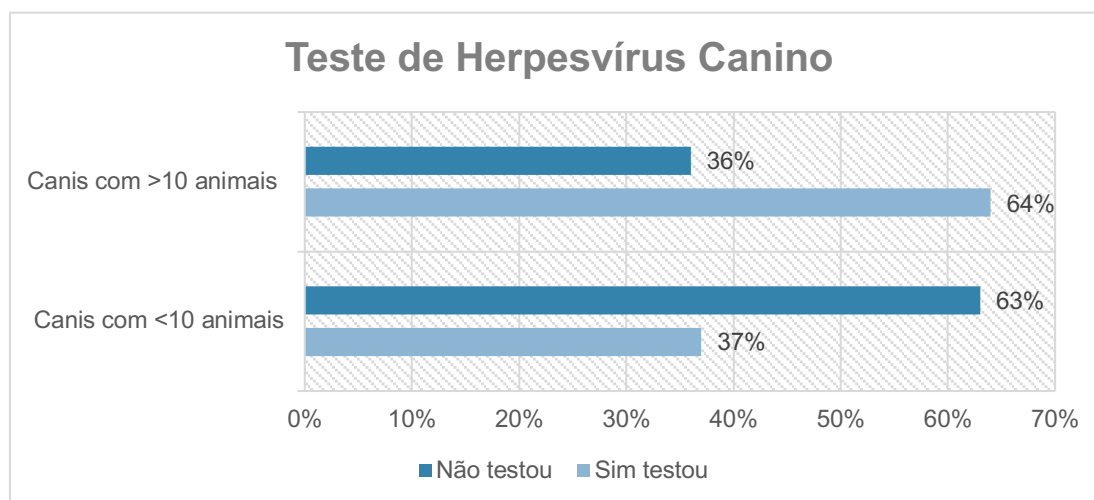
### 10.5. Herpesvírus

Quando questionados sobre a realização de testes para a presença de herpesvírus no canil, 60% (n=60) dos criadores respondeu que não realizaram qualquer exame, enquanto que 40% (n=40) respondeu que realizaram. Dos criadores que testaram (N=40), 67% (n=27) indicou que o resultado foi negativo enquanto que 33% (n=13) obteve um resultado positivo.

Quando se divide a amostra para testagem de HVC-1 entre os criadores com menos e mais animais (gráfico 6), observamos que no grupo de criadores com menos de 10 animais reprodutores (N=86) a maioria não realizou teste para o herpesvírus (63%; n=54), já no grupo de criadores com mais de 10 animais reprodutores (N=14) a maioria realizou teste para o herpesvírus (64%; n=9). As percentagens relativas aos resultados positivos foram ligeiramente superiores nos canis com mais de 10 animais (N=14), 21% (n=3), enquanto que nos canis com menos de 10 animais (N=86), essa percentagem foi de 12% (n=10).



**Gráfico 5** – Percentagem de criadores que realizaram (com resultados positivos e negativos) e que não realizaram exame de diagnóstico de herpesvírus no seu canil.

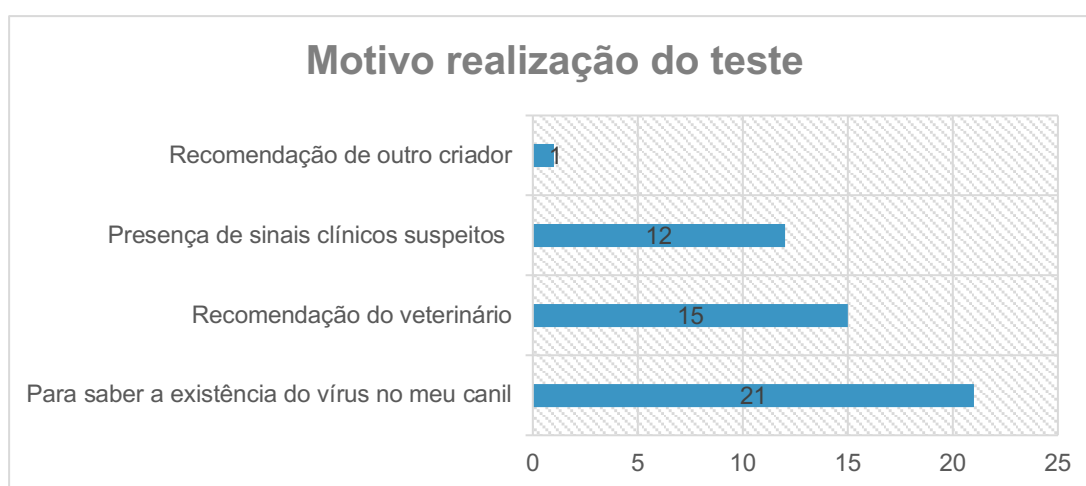


**Gráfico 6** – Percentagem de criadores que realizaram e que não realizaram exame de diagnóstico de herpesvírus no seu canil conforme a dimensão relativa do canil.



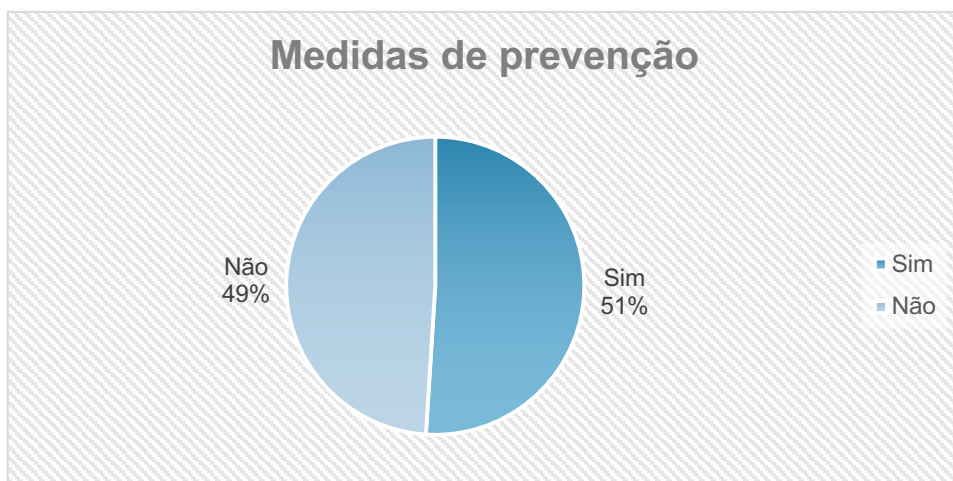
O método de diagnóstico mais utilizado foi a sorologia com 43% (n=17; N=40), o PCR e a necrópsia de neonatos apresentaram a mesma percentagem de 15% (n=6; N=40) e apenas 2% (n=1; N=40), referiram que realizaram exame ao sêmen não referindo qual foi o método usado para este exame. Os restantes 25% (n=10; N=40) não sabem qual foi o método de diagnóstico.

Na pergunta sobre os motivos de realização do teste, vários criadores selecionaram mais do que uma opção. O principal motivo indicado pelos criadores (53%; n=21; N=40) para realização deste teste foi para saberem a prevalência do HVC-1 no seu canil. Dos inquiridos, 38% (n=15; n=40) realizou o teste por recomendação do veterinário e 3% (n=1; N=40) por recomendação de outro criador. Por fim, 30% (n=12; N=40) realizou o teste pela presença de sinais clínicos suspeitos como abortos, morte de neonatos sem motivo aparente, infertilidade, etc. Dos 12 criadores que realizaram o teste por presença de sinais clínicos suspeitos, 5 (42%; n=5; N=12) apresentaram um resultado positivo, enquanto que, dos 28 criadores que realizaram o teste por outros motivos apenas 8 (29%; n=8; N=28) obtiveram um resultado positivo.



**Gráfico 7** – Número de criadores que realizaram o teste de herpesvírus consoante os motivos de realização do mesmo.

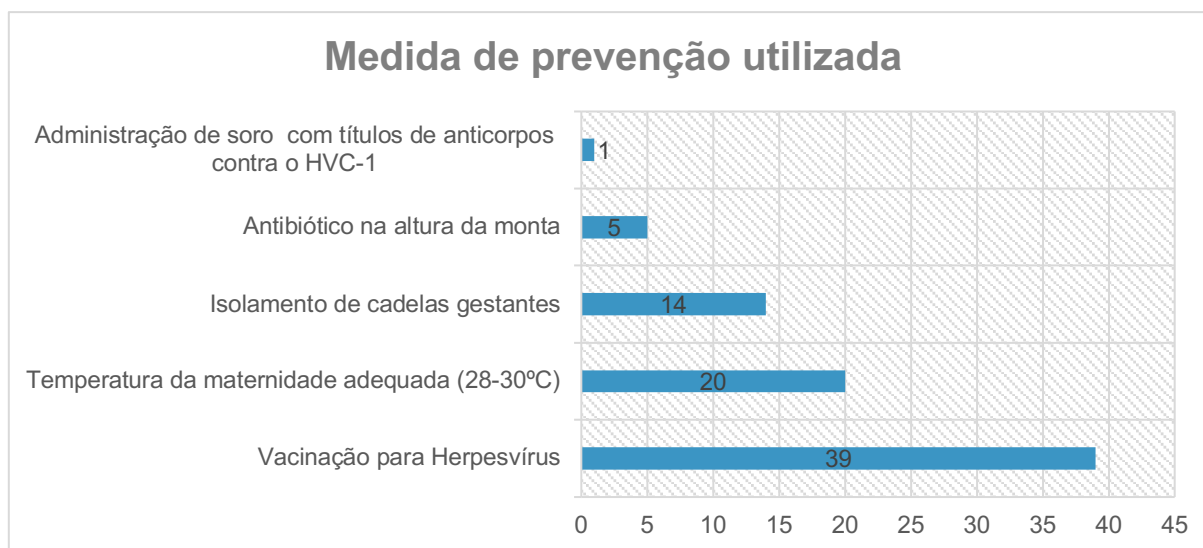
Relativamente ao uso de medidas de prevenção para herpesvírus as respostas foram equilibradas, sendo que 49% (n=49) respondeu que não toma qualquer tipo de medida preventiva, enquanto 51% (n=51) respondeu que sim.



**Gráfico 8** – Percentagem de criadores que utiliza e que não utiliza medidas de prevenção para o herpesvírus.

A medida de prevenção mais utilizada é a vacinação, sendo que 76% (n=39; N=51) dos criadores que fazem prevenção para o HVC-1, respondeu que faz vacinação.

Depois da vacinação, as medidas mais referidas foram os cuidados com a temperatura da maternidade (39%, n=20; N=51) e o isolamento das cadelas gestantes (27%, n=14; N=51). Apenas 2% (n=1; N=51) dos inquiridos faz administração de soro com títulos de anticorpos contra o HVC-1. Por fim, 10% (n=5; N=51) relatou usar antibiótico na altura da monta como método de prevenção para o HVC-1.



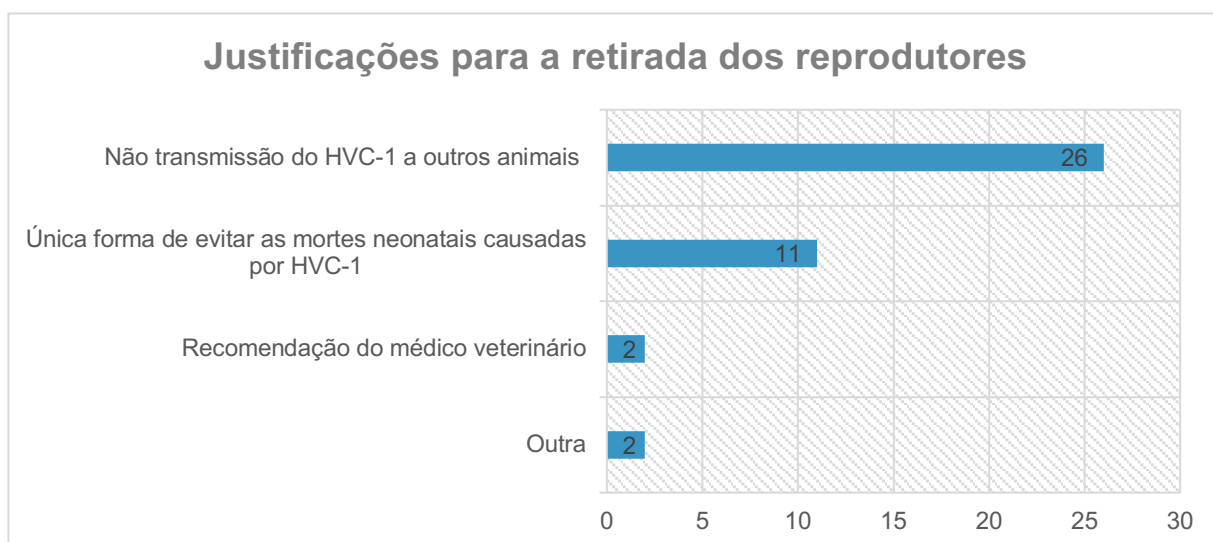
**Gráfico 9** – Número de criadores que realizam medidas de prevenção conforme os diferentes tipos de opções.

Na última pergunta do inquérito, “Considera que um cão/cadela adulto reprodutor, sem sinais clínicos de doença, positivo ao herpesvírus, deve ser eliminado da reprodução?”, 59% (n=59) dos criadores respondeu que não, enquanto que 41% (n=41) respondeu que sim. A

justificação a esta questão foi solicitada em regime de resposta aberta. As respostas foram várias, sendo que as mais mencionadas estão representadas nos gráficos seguintes (gráficos 10 e 11).



**Gráfico 10**– Representativo do número de criadores que não consideram que um cão/cadela adulto reprodutor portador do HVC-1 (sem sinais clínicos) deve ser eliminado da reprodução, organizado consoante as justificações dadas pelos mesmos.



**Gráfico 11**– Representativo do número de criadores que consideram que um cão/cadela adulto reprodutor portador do HVC-1 (sem sinais clínicos) deve ser eliminado da reprodução, organizado consoante as justificações dadas pelos mesmos.

## 11. Discussão

A adesão dos criadores Portugueses a este inquérito foi positiva.

A primeira secção do inquérito teve como objetivo a caracterização dos canis. Todos os criadores que responderam ao inquérito são de Portugal Continental, sendo que a maior parte está localizada na região Centro (46%) e Norte (37%).

O tamanho do canil é um importante fator para a sero-prevalência do HVC-1, visto que quanto maior a densidade animal, maior a probabilidade de contacto com o vírus <sup>5</sup>. A maior parte dos criadores inquiridos apresenta um número baixo de animais, constituindo assim uma menor probabilidade de contágio. Como seria de esperar, maior parte do número total de animais é constituído por fêmeas. Grande parte dos criadores, apresenta uma média de 1 a 3 ninhadas por ano, o que é coincidente com a grande percentagem de criadores com apenas 1 a 10 animais reprodutores. Não foram observadas diferenças geográficas quanto às características do canil, nem mesmo quanto à dimensão do canil pois as 3 regiões tiveram uma distribuição de respostas para nº total de reprodutores e nº ninhadas semelhante entre elas e ao total.

As exposições caninas e os serviços de hotel são também fatores de risco para o contágio do HVC-1 devido à sua capacidade de transmissão oronasal <sup>2</sup>. Através destes inquéritos verificou-se que a afluência às exposições caninas entre canicultores é grande, e como nestes eventos a densidade canina é elevada, a possibilidade de transmissão oronasal deste vírus é maior <sup>10</sup>. Os canis que frequentam exposições e ainda fazem serviço de hotel/treino canino são os que estão estatisticamente mais expostos e esses representaram uma percentagem de 15%.

Relativamente à via de transmissão sexual, o tipo de cruzamentos pode implicar diferentes graus de risco. A inseminação artificial pode ser uma forma de proteger o macho de uma fêmea portadora ou uma fêmea primípara de um macho portador do vírus, no entanto esta medida ainda não foi totalmente estudada, uma vez que a passagem do vírus através do sémen constitui uma possibilidade <sup>39,2</sup>. Nos últimos dois anos, 63% dos criadores realizou uma ou mais inseminações artificiais, enquanto que 37% não realizaram nenhuma. Quando nos referimos a montas naturais, no geral, verificámos que foram realizadas mais montas naturais com machos do próprio canil do que com machos de outros canis, sendo que 56% dos inquiridos não realizou nenhuma monta natural com machos de outros canis nos últimos dois anos. A monta natural com machos do próprio canil constitui um menor risco de contágio do vírus relativamente à monta com machos não pertencentes ao canil. As deslocações de cães entre canis, especialmente para cruzamentos, também constituem um aumento do risco de contágio do vírus. Dos criadores inquiridos, 47% teve cães a deslocarem-se a outros canis para fazerem cruzamentos nos últimos dois anos, enquanto 53% teve cães a entrarem no seu canil para realizarem cruzamentos.

Na questão relativa à utilização de medicação antes, durante ou após a monta/inseminação artificial, 29% dos criadores respondeu afirmativamente. Destes, 34% respondeu que fazem vacinação contra herpesvírus e 31% respondeu desparasitação, aqui

presume-se que maior parte dos criadores não considerou a vacinação nem a desparasitação como medicação e por isso os valores não correspondem à realidade, o que se irá confirmar no caso da vacinação numa das questões da última secção do inquérito. Ainda dos 29 criadores que administram medicação, 24% respondeu ácido fólico e 7% respondeu suplementação de cálcio. Mais uma vez, presume-se que maior parte dos criadores não considerou a suplementação nutricional como uma medicação o que torna esta percentagem irreal. O ácido fólico é um suplemento nutricional que parece ser oferecido durante a gestação com alguma frequência pelos criadores, tendo como principal objetivo reduzir a incidência do aparecimento da fenda palatina e/ou lábio leporino nos neonatos <sup>33</sup>. Já a suplementação de cálcio não está recomendada durante a gestação e pode acarretar perigos como eclampsia, hipocalcémia e distocia. Apesar do requerimento alto em cálcio por parte da cadela gestante, esta consegue satisfazer as suas necessidades através da dieta e reabsorção das reservas de cálcio do corpo com o controlo da glândula paratiroide. A suplementação de cálcio durante a gestação pode levar a inibição da função desta glândula o que vai interferir com a utilização de cálcio. Quando o nível de requerimento de cálcio se torna ainda mais elevado, ou seja, no pós-parto imediato / início de amamentação, a cadela não consegue acompanhar a demanda de cálcio exigida devido à fraca função da glândula paratiroide, entrando assim em colapso <sup>34</sup>. Por último, 24% afirmaram que administram antibióticos antes, durante ou após o cruzamento. A administração de antibiótico durante a altura do cruzamento leva à redução da flora bacteriana comensal e a um aumento das estirpes bacterianas com resistência aos antibióticos, provocando, consequentemente, um risco acentuado de exposição dos cachorros a infeções de difícil tratamento causadas pelas mesmas <sup>35</sup>. A incorreta utilização de antibióticos destacou-se em criadores da raça Bulldog, uma vez que 45% dos criadores que utilizam antibiótico na altura dos cruzamentos/inseminação são criadores de Bulldogs. Os restantes eram criadores de diferentes raças, nomeadamente Pastor de Beauce, Border Collie, Flatcoated and Golden Retriever e Welsh Corgi.

Ainda nesta secção, foi questionado sobre a exigência de medicação obrigatória antes, durante ou após a monta/inseminação artificial, e 4% responderam que sim. O tipo de medicação foi recolhida por resposta aberta e consistiu em vacinação contra herpesvírus, ácido fólico e mais uma vez, antibiótico. Assume-se que a exigência de vacinação ou ácido fólico tem o intuito de proteção dos futuros descendentes, no entanto, a exigência de administração de antibiótico como prevenção, como referido anteriormente, é incorreta e potencialmente perigosa <sup>35</sup>.

Já na altura do parto, quando a progenitora está a excretar ativamente o vírus, a passagem dos neonatos pelo canal de nascimento constitui um risco de contágio do HVC-1 <sup>1</sup>. A percentagem de criadores que tiveram partos naturais nos últimos dois anos foi de 82%. Relativamente às cesarianas, as de urgências tiveram uma percentagem mais alta que as cesarianas eletivas, 53% teve 1 ou mais cesarianas de urgência nos últimos dois anos enquanto que apenas 29% tiveram 1 ou mais cesarianas eletivas. Dos 29 criadores que realizaram

cesarianas eletivas, 10 eram criadores de Bulldogs Francês e Inglês. Estas raças estão mais predispostas a distócia devido, não só à braquicefalia, como à condrodistrofia que apresentam

<sup>36</sup>.

Na secção dos problemas reprodutivos foram averiguadas as incidências dos mesmos nos canis portugueses. A causa dos problemas reprodutivos fica muitas vezes por diagnosticar e o herpesvírus pode ser uma causa para qualquer um dos problemas mencionados em seguida. As percentagens mais baixas dos problemas reprodutivos apresentados foram as vaginites e os abortos, sugerindo que a incidência destas patologias é baixa ou a sua deteção não é frequente. O problema reprodutivo mais comumente referido foi a dificuldade em ficar gestante, sendo que 41% dos criadores inquiridos relatou já ter ocorrido no seu canil nos últimos 2 anos. A infertilidade é um problema reprodutivo frequentemente relatado pelos criadores pois, para além de ser um problema facilmente detetado, pode ter diferentes causas como problemas hormonais, congénitos, adquiridos e doenças infecciosas, como é o caso do herpesvírus <sup>37</sup>.

Não se observou uma maior incidência destes problemas reprodutivos nos canis de maior dimensão, no entanto, a amostra de canis com mais de 10 animais é muito inferior à amostra dos canis com menos de 10 animais.

Uma das consequências mais relevantes do HVC-1 é a morte de neonatos sem motivo aparente <sup>2</sup>. A morte causada pelo HVC-1 pode ocorrer ainda dentro do útero da progenitora ou após o nascimento, desde a primeira até à terceira semana de idade. Pode afetar apenas alguns cachorros mas, uma vez que se trata de uma patologia infecciosa, geralmente afeta toda a ninhada <sup>22</sup>. Os problemas mais comumente relatados foram os cachorros mortos ao nascimento (51%) e a morte de cachorros na primeira semana pós-parto (42%) o que coincide com a fase neonatal que, segundo vários estudos, apresenta uma maior percentagem de mortalidade <sup>38</sup>.

Se ocorrer morte de uma ninhada inteira, mesmo quando todas as condições estão asseguradas (temperatura, higiene, alimento disponível, etc), as principais etiologias a ter em consideração são as doenças infecciosas <sup>38</sup>. Nos últimos dois anos, 13% relatou ter tido de 1 a 3 mortes de ninhadas completas e 1% relatou ter de 4 a 10 mortes de ninhadas completas.

A última secção do inquérito foi dirigida especificamente para o HVC-1. A percentagem de criadores que não testou para o herpesvírus é superior (60%) à percentagem dos que testaram (40%). Nesta pergunta foram observadas diferenças conforme a dimensão dos canis, ou seja, nos canis com mais de 10 animais reprodutores a percentagem dos que realizaram teste (64%) foi bastante superior comparativamente aos que testaram nos canis com menos de 10 animais (37%). Esta diferença pode indicar uma maior preocupação relativamente a este vírus nos canis de maior tamanho, possivelmente explicada pela maior probabilidade de contágio.

No geral, dos criadores que testaram, a maioria, 67%, obteve um resultado negativo. Este resultado não está de acordo com a sero-prevalência mundial <sup>11-13</sup>, no entanto, foi baseado num

inquérito e não num levantamento serológico. Adicionalmente, este vírus apresenta um caráter intermitente de excreção, tornando a sua identificação muitas vezes difícil, especialmente quando não existem sinais clínicos associados. Nesse sentido, falsos negativos são comuns nos diferentes meios de diagnóstico, quer seja por reduzida excreção viral durante a fase de latência do vírus, imunização, ausência de lesões ou curta duração dos anticorpos circulantes <sup>17</sup>.

Os motivos de realização do teste podem ser vários e existiram criadores a selecionarem mais do que uma opção. O principal motivo relatado dos criadores para realização deste teste foi o despiste, ou seja, para ficarem a saber a prevalência do HVC-1 no seu canil, sendo que dos 40 criadores que testaram, 21 afirmaram que este foi o motivo de realização do teste. Quando o teste é realizado na ausência de sinais clínicos associados ou com o sistema imunitário totalmente competente, a dificuldade de deteção do HVC-1 é alta, tornando muitas vezes estes despistes pouco úteis <sup>2</sup>. Um resultado negativo não garante a ausência de contacto com o vírus ou um contacto futuro com o mesmo, assim como um resultado positivo não é necessariamente indicativo de existência de problemas reprodutivos <sup>15</sup>.

Os 12 criadores que realizaram o teste por presença de sinais clínicos suspeitos, obtiveram uma percentagem de resultados positivos superior (42%) comparativamente aos resultados positivos dos 28 criadores que realizaram o teste por outros motivos (29%). Este resultado seria de esperar porque quando existem sinais clínicos a probabilidade de ocorrência de falsos negativos é menor comparativamente a quando não existem sinais clínicos.

Em relação às medidas de prevenção, metade dos criadores relatou que não realiza quaisquer medidas para este vírus, podendo ser considerado preocupante, uma vez que as medidas de prevenção são essenciais para evitar a manifestação clínica deste vírus. Entre os que fazem medidas de prevenção, a maioria utiliza a vacinação (76%), o que corresponde a uma percentagem de 39% relativamente ao total de inquiridos. De realçar que, alguns criadores relataram ainda dificuldade em encontrar estas vacinas disponíveis nas clínicas e hospitais em Portugal.

A regulação da temperatura da maternidade, isolamento de cadelas gestantes, e administração de soro foram também medidas relatadas. Também a administração de antibióticos durante a altura da monta (13% dos criadores que fazem medidas de prevenção) foi referida como medida de prevenção para o HVC-1. Infelizmente, alguns criadores acreditam, incorretamente, que os antibióticos possuem ação preventiva contra os vírus, sendo que esta questão necessita de ser esclarecida junto dos mesmos.

Por último, a questão “Considera que um cão/cadela adulto reprodutor, sem sinais clínicos de doença, positivo ao herpesvírus, deve ser eliminado da reprodução?”, as respostas dividiram-se, e 41% respondeu afirmativamente, o que demonstra a necessidade de transmitir uma maior informação relativamente ao HVC-1. As justificações para esta medida, por parte dos criadores, passavam por a não transmissão do HVC-1 a outros animais; única forma de evitar as

mortes neonatais causadas por HVC-1; ou até recomendações dadas pelo médico veterinário. É importante esclarecer os conceitos anteriormente destacados e verificar que estes são falsos. Quando nos referimos à eliminação de um animal na criação para impedimento de transmissão, devemos ter em conta que a via sexual não é a única forma de transmissão possível. Além disso, devido à elevada sero-prevalência deste vírus na população canina, a retirada do programa de reprodução de todos os animais portadores, sem sinais clínicos, não seria exequível. Devem sim, ser tomadas medidas de prevenção sendo estas essenciais para impedir a replicação do vírus e consequente manifestação clínica. No entanto, é importante realçar que, algumas justificações para a permanência de animais portadores deste vírus na criação eram incorretas, como por exemplo, a ideia de uma possível cura para o HVC-1, sendo igualmente importante a correção destes conceitos.

Quando nos referimos a animais portadores com sinais clínicos, mais uma vez, devem ser tomadas as medidas preventivas anteriormente referidas e, se necessário, tratamentos sintomáticos. Caso a manifestação clínica se mantenha, deve ser discutido com o médico veterinário a permanência do animal em programas de reprodução.

## **12. Conclusão**

Tendo em conta a alta prevalência do herpesvírus na população canina mundial e gravidade da infeção neonatal, é de grande importância a transmissão do correto conhecimento desta patologia, tanto para os criadores como para os próprios veterinários. É possível concluir que, entre os criadores, existe familiarização com o vírus e com as suas principais características, no entanto existem também várias informações incorretas que podem pôr em causa a dinâmica do canil. A utilização de medidas de prevenção é o ponto chave para alcançar um estado de proteção eficaz nos seus canis e assim reproduzir animais saudáveis, com menos problemas reprodutivos e menor taxa de mortalidade neonatal.

É de grande relevância que os canicultores sejam consciencializados para a importância do HVC-1 e de tudo o que esteja relacionado com este, bem como os médicos veterinários preparados para a implementação de protocolos de prevenção e monitorização junto dos canis de reprodução, para que, em conjunto seja possível diminuir a manifestação clínica deste vírus.

## **13. Bibliografia**

1. Sykes JE, Davidson AP (2014) **Canine and Feline Infectious Diseases**, 1º Ed, 54 - 65, 166 - 169;
2. Greene CE, Ford RB (2012) **Infectious Diseases of the Dog and Cat**, 4º Ed, 48-65;
3. Capuzzi J. (2000), "Symposia for Breeders & Owners - Article 9", **30th Annual Canine Symposium**, 11-17;
4. Hashimoto A, Hirai K, Yamaguchi T, Fujimoto Y. (1982) "Experimental Transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus" **American Journal of Veterinary Research**, 43, 844-850;



5. Ronsse V, Verstegen J, Onclin K, et al. (2002) "Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in the Belgian dog population in 2000", **Reproduction in Domestic Animals**, 37, 299-304;
6. Carmichael LE. (2006), **Reproduccion en Caninos y Felinos Domesticos**, 225-231;
7. Morresey PR. (2004), "Reproductive effects of canine herpesvirus", **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, 26, 804-810;
8. Murphy F, Gibbs E, Horzinek M, Studdert M (1999) **Veterinary Virology**, 3<sup>o</sup>Ed, 35-68;
9. Burr PD, Campbell MEM, Nicolson L, Onions DE (1996), "Detection of Canine Herpesvirus 1 in a wide range of tissues using the polymerase chain reaction", **Vet Microbiology**, 53, 227-237;
10. Ronsse V, Verstegen J, Thiry E, et al. (2005), "Canine Herpesvirus-1 (CHV-1): Clinical, Serological and Virological Patterns in Breeding Colonies", **Theriogenology**, 64, 61-74;
11. Guillermo Valdivia Lara E, Ileana Ángeles Solis J, Cuenca C, et al. (2016), "Canine Herpesvirus Seroprevalence and Associated Factors in Dogs of Mexico", **Open Journal of Veterinary Medicine**, 06, 149-162;
12. König M, Neiseke J, Thiel HJ. (2004), "*Prevalence of Canine Herpesvirus I (CHV-1) in German Kennels*", **Tierärztliche Umschau**, 59, 559-565;
13. Krogenæs A, Rootwelt V, Larsen S, Renström L, Farstad W, Lund A. (2014), "A serological study of canine herpesvirus-1 infection in a population of breeding bitches in Norway", **Acta Veterinaria Scandinavica**, 56, 19;
14. Dias MA. (2018), "Análise molecular e serológica de herpesvírus canino (CHV-1) em cães de canis de Região de Lisboa e Vale do Tejo e do Distrito de Coimbra", **Tese de Mestrado em Medicina Veterinária**, 35-41;
15. Fontaine E. (2015), "Canine Herpes Virus Ebook", **Royal Canin**, 1-31
16. Pratelli A, Colao V, Losurdo M. (2014), "Serological and virological detection of canine herpesvirus-1 in adult dogs with and without reproductive disorders", **The Veterinary Journal**, 57-260;
17. Greco DS, Davidson AP. (2017), **Blackwell 's Five-Minute Veterinary Consult Small Animal Endocrinology and Reproduction**, 525-530;
18. Hashimoto A, Hirai K, Suzuki Y, Fujimoto Y. (1983), "Experimental transplacental transmission of canine herpesvirus in pregnant bitches during the second trimester of gestation", **American Journal of Veterinary Research**, 4, 610-614;
19. Lopate C, Seksel K. (2012), "Canine Neonatal Physiology, Behavior, and Socialization", **Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets**, 93-127;
20. Couto CG, Nelson RW. (2015), **Medicina Interna de Pequenos Animais**, 95-105;
21. Crespilho AM, Isabel M, Martins M, Souza FF De, Lopes MD, Papa FO. (2007), "Abordagem terapêutica do paciente neonato canino e felino: 2 . Aspectos relacionados a terapia intensiva, antiparasitários e antibióticos", **Revista Brasileira Reprodução Animal**, 31, 425-432;
22. Greer ML. (2018), **Canine Reproduction and Neonatology**, 68-80, 158-160;
23. Lopate C. (2012), **Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets**, 1, 135-142;

24. Ledbetter EC. (2013), "Canine herpesvirus-1 ocular diseases of mature dogs", **New Zealand Veterinary Journal**, 61, 193-201;
25. Kawakami K, Ogawa H, Maeda K, (2010), "Nosocomial outbreak of serious canine infectious tracheobronchitis (kennel cough) caused by canine herpesvirus infection", **Journal of Clinical Microbiology**, 48, 1176-1181;
26. Fontbonne A. (2011), "L'Herpesvirose canine", **Bull Académie vétérinaire Fr**, 164, 331-340;
27. Rampacci E, Malmlov Am, Marenzoni MI, (2016), "Serological and biomolecular survey on canine herpesvirus-1 infection in a dog breeding kennel", **Journal of Veterinary Medical Science**, 78, 797-802;
28. Hashimoto A, Hirai K, Okada K, Fujimoto Y. (1979), "Pathology of the placenta and newborn pups with suspected intrauterine infection of Canine herpesvirus", **American Journal of Veterinary Research**, 40, 1236-1240;
29. Smith KC. (1997), "Herpesviral abortion in domestic animals", **Veterinary Journal**, 153, 253-268;
30. Angulo SM, Arús J, Ballester J, (2013), **Medicina Pediátrica En Pequeños Animales**, 232-234;
31. Day MJ, Horzinek MC, Schultz RD, Squires RA. (2016), **WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. J Small Anim Pract**, 4-5;
32. Barreto CS, Prestes CN. (2004), "Immunity and Canine Neonatal Nutrition", **Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**, 2, 57-60;
33. Domosławska A, Jurczak A, Janowski T. (2013), "Oral folic acid supplementation decreases palate and/or lip cleft occurrence in Pug and Chihuahua puppies and elevates folic acid blood levels in pregnant bitches", **Polish Journal of Veterinary Sciences**, 16, 33-37;
34. Concannon PW, (2000), "Canine Pregnancy: Predicting Parturition and Timing Events of Gestation", **Recent Advances in Small Animal Reproduction IVIS**, 2-7;
35. Milani C, Corró M, Drigo M, Rota A, (2012), "Antimicrobial resistance in bacteria from breeding dogs housed in kennels with differing neonatal mortality and use of antibiotics", **Theriogenology**, 78, 1321-1328;
36. Trautmann A, Nolte I, (2003), "Dystocia in selected dog breeds: predispositions and circumstances", **Der Praktische Tierarzt**, 84(12), 902-911;
37. Fontbonne A (2006), "Infertility in the Bitch", **World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings**;
38. Münnich A, Küchenmeister U, (2014), "Causes, diagnosis and therapy of common diseases in neonatal puppies in the first days of life: Cornerstones of practical approach", **Reproduction in Domestic Animals**, 49, 64-74;
39. Torres L, Ortiz T, Tang Q, (2015) "Enhancement of Herpes Simplex Virus (HSV) Infection by Seminal Plasma and Semen Amyloids Implicates a New Target for the Prevention of HSV Infection", **Viruses**, 2057-2073.

## ANEXOS

### 1. Casuística durante o período de estágio (08/01 – 30/04) (realizado na clínica Planeta Animal em Aveiro e no Hospital Veterinária em Madrid)

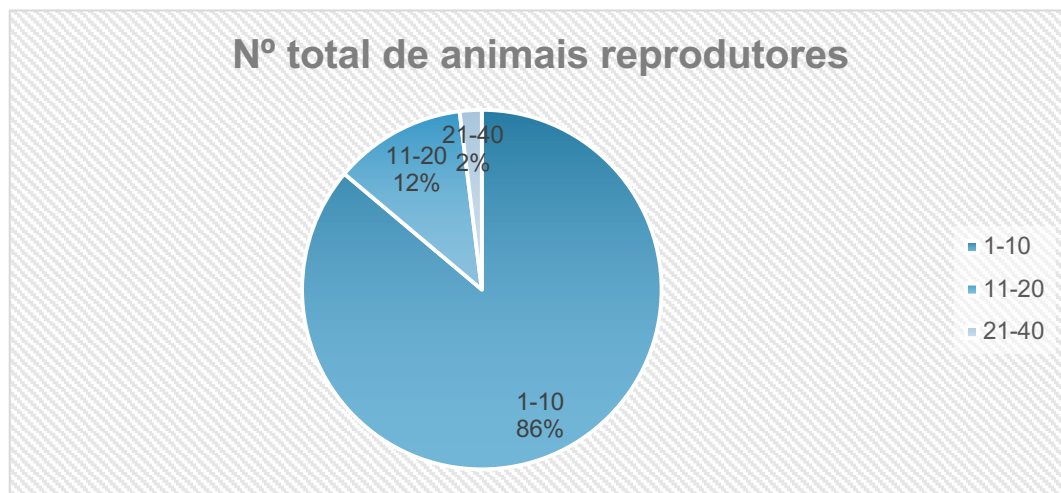
Área	Número de casos
Cardiologia	13
Dermatologia	24
Endocrinologia	17
Gastroenterologia	31
Oftalmologia	8
Reprodução	6
Sistema Respiratório	6
Traumatologia	6
Sistema Locomotor	7
Sistema Urinário	24
Oncologia	20
Medicina preventiva	68
Nutrição	2
Neurologia	5
Reabilitação	2
Espécies Exóticas	10

**Tabela 2:** Número de casos observados durante o período de estágio, organizados por áreas.

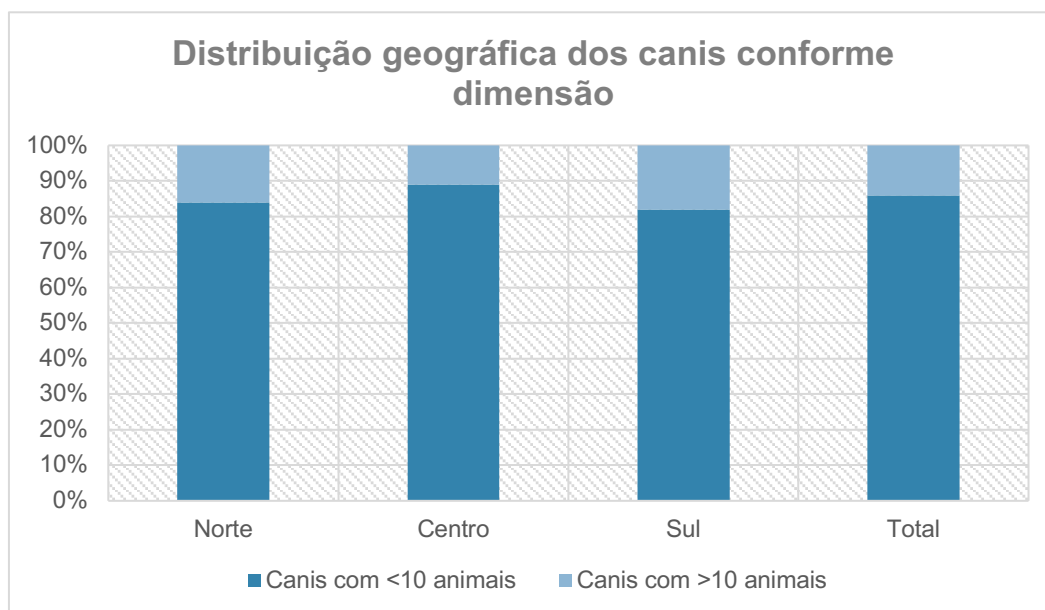
Procedimentos	Número de vezes que foram realizados
Colocação de cateter	27
Algáliação	1
Recolha de sangue	7
Entubação	11
Cistocentese	2
Enema	1
Ovário-histerectomia	2
Orquiectomia cão	2
Orquiectomia gato	8
Consulta	4

**Tabela 3:** Alguns procedimentos realizados pela autora no decorrer do estágio.

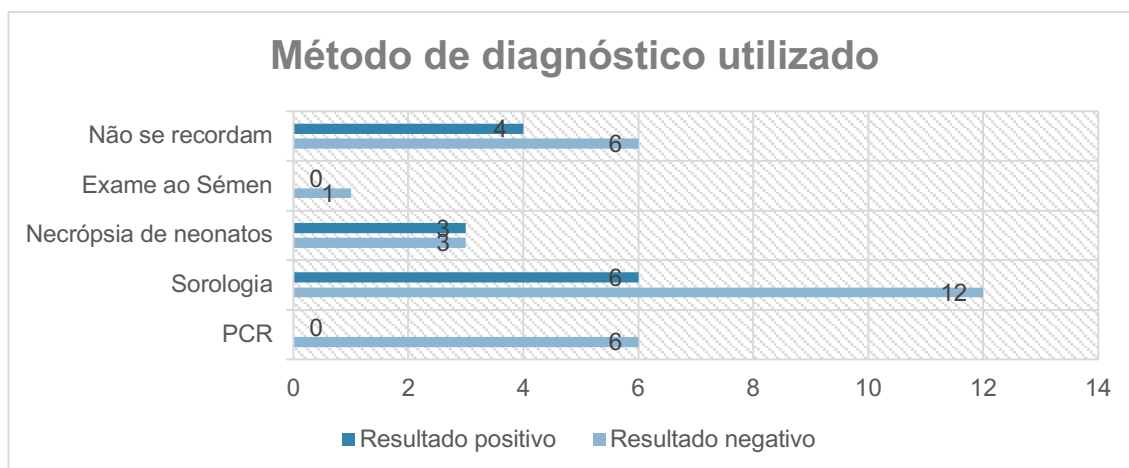
## 2. Gráficos dos resultados



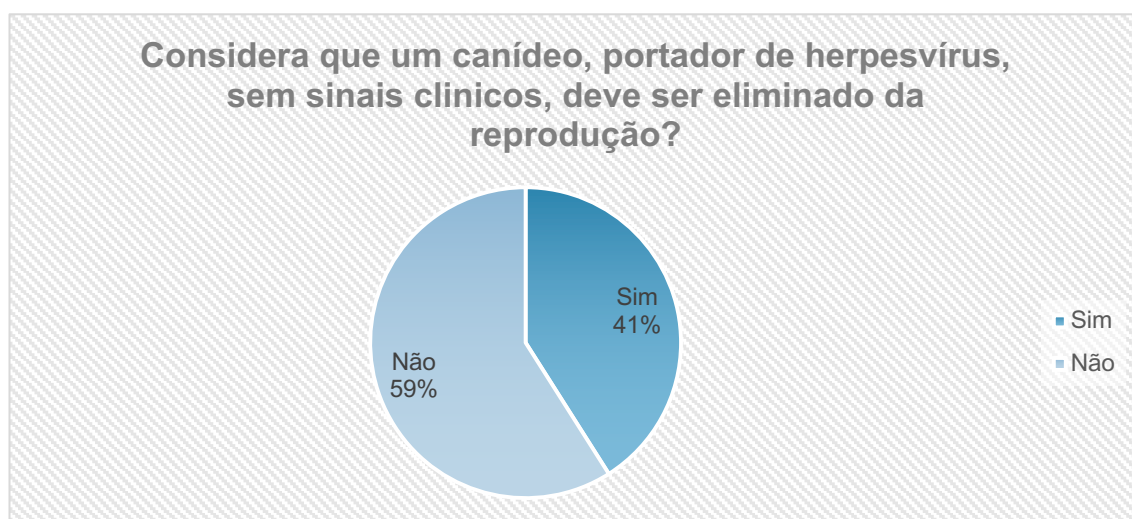
**Gráfico 12** – Percentagem do número total de animais reprodutores nos diferentes canis.



**Gráfico 13** – Percentagem do número total de animais reprodutores nos diferentes canis.



**Gráfico 14**– Número de criadores que realizaram exame para o herpesvírus consoante o método de diagnóstico utilizado e o resultado obtido.



**Gráfico 15**– Percentagem de criadores que responderam sim ou não à pergunta “Considera que um cão/cadela adulto reprodutor, sem sinais clínicos de doença, positivo ao herpesvírus, deve ser eliminado da reprodução?”.



## Herpes Vírus Canino

O Herpes Vírus é uma causa de infertilidade e morte neonatal canina frequente nos canis de reprodução. Nesse sentido, este inquérito tem como objetivo avaliar o grau de informação e as medidas de prevenção adotadas pelos criadores em Portugal. Este é parte integrante da tese de Mestrado em Medicina Veterinária da aluna Filipa Santiago do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, da Universidade do Porto.

As respostas a este inquérito são anónimas.

O tempo necessário para responder será entre 3-4 minutos.

Instruções:

- Por favor responda às questões com base nos ÚLTIMOS 2 ANOS.
- Caso tenha mais do que uma raça responda às questões utilizando os dados totais do canil.

Muito obrigada pela sua colaboração!

**\*Obrigatório**

## Caracterização do canil

### 1. Localização \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Norte  
☐ Centro  
☐ Sul

### 2. Raça / Raças (nome de todas as raças que faz criação) \*

---

---

---

---

---

### 3. Nº total de animais reprodutores: \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 1 - 10  
☐ 11 - 20  
☐ 21 - 40  
☐ + 40

### 4. Nº de fêmeas reprodutoras: \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 1 - 10  
☐ 11 - 20  
☐ 21 - 40  
☐ + 40

### 5. Nº de machos reprodutores \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 10  
☐ 11 - 20  
☐ 21 - 40  
☐ + 40

### 6. Média de ninhadas por ano \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 1 - 3  
☐ 4 - 8  
☐ 9 - 20  
☐ + 20

### 7. Frequenta exposições caninas? \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim  
☐ Não

### 8. Faz serviço de hotel/treino canino no canil? \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim  
☐ Não

Instruções:

- Por favor responda às questões com base nos ÚLTIMOS 2 ANOS.
- Caso tenha mais do que uma raça responda às questões utilizando os dados totais do canil.

## Tipo de cruzamentos realizados

### 9. Inseminação artificial \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

10. **Monta natural com machos do próprio canil \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

11. **Monta natural com machos de outros canis \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

12. **Teve cães a deslocarem-se a outros canis para fazerem cruzamentos? Aproximadamente quantos? \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

13. **Houve entrada de cães de outros canis para cruzamentos? Aproximadamente quantos? \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

14. **Faz algum tipo de medicação antes, durante ou após a monta/inseminação artificial \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim  
☐ Não

15. **Em caso de resposta afirmativa na pergunta anterior, indique qual a medicação utilizada e a frequência da mesma**

16. **Alguma vez lhe foi exigido algum tipo de medicação obrigatória a ser administrada antes, durante ou após a monta/inseminação artificial \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim  
☐ Não

17. **Em caso de resposta afirmativa à pergunta anterior, indique qual a medicação exigida e a frequência da mesma**

Instruções:

- Por favor responda às questões com base nos ÚLTIMOS 2 ANOS.
- Caso tenha mais do que uma raça responda às questões utilizando os dados totais do canil.

## Ninhadas e método de nascimento

Dados relativos a ninhadas e tipos de parto nos ÚLTIMOS 2 ANOS.

18. **Quantas ninhadas teve? \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

19. **Quantos partos naturais (todos os cachorros nascidos sem intervenção médica/cirúrgica)? \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

20. **Quantas cesarianas de urgência (mesmo quando apenas o último cachorro foi por cesariana)? \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

21. **Quantas cesarianas marcadas \***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

Instruções:

- Por favor responda às questões com base nos ÚLTIMOS 2 ANOS.
- Caso tenha mais do que uma raça responda às questões utilizando os dados totais do canil.



## Problemas reprodutivos

Dos seguintes problemas reprodutivos, indique aproximadamente o nº de casos nos ÚLTIMOS 2 ANOS

22. Partos em que teve que haver intervenção médica para nascimento dos cachorros \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

23. Vaginites \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

24. Dificuldade em ficar gestante \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

25. Prolapso vaginal \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

26. Abortos \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

27. Cachorros mortos ao nascimento \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

28. Morte de cachorros na 1ª semana pós-parto \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

29. Morte de cachorros entre a 2ª e 3ª semana pós-parto \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

30. Morte de toda a ninhada \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 0  
☐ 1 - 3  
☐ 4 - 10  
☐ + 10

## Herpes-Vírus

31. Alguma vez testou a presença de herpes vírus no seu cani? \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim e deu positivo  
☐ Sim e deu negativo  
☐ Não

32. Em caso de resposta afirmativa à pergunta anterior, por favor, indique qual foi o método de diagnóstico utilizado

Marcar tudo o que for aplicável.

- ☐ Sorologia  
☐ PCR  
☐ Necrópsia de neonatos  
☐ Outra: \_\_\_\_\_

33. Qual foi o motivo para a realização do teste?

Marcar tudo o que for aplicável.

- ☐ Para saber a existência do vírus no meu canil  
☐ Presença de sinais clínicos suspeitos (abortos, morte de neonatos sem motivo aparente, infertilidade,...)  
☐ Recomendação do veterinário  
☐ Recomendação de outro criador  
☐ Outra: \_\_\_\_\_

34. Faz alguma medida de prevenção para este vírus? \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim  
☐ Não

35. Em caso de resposta afirmativa à pergunta anterior, Indique qual/quais:

Marcar tudo o que for aplicável.

- ☐ Vacinação para herpes sempre que uma cadela é utilizada para reproduzir  
☐ Temperatura da maternidade adequada (28 - 30°C)  
☐ Isolamento de cadelas gestantes  
☐ Administração de soro de cães com títulos de anticorpos contra o Herpes Vírus Canino nos neonatos  
☐ Antibiótico na altura na monta / inseminação artificial  
☐ Outra: \_\_\_\_\_

36. Considera que um cão/cadela adulto reprodutor, sem sinais clínicos de doença, positivo ao Herpes vírus, deve ser eliminado da reprodução? \*

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim  
☐ Não

37. Por favor, justifique a resposta anterior \*

---

---

---

---

---